Gmk. S.Z.

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, H. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundfünfzigster Band.

Ausgegeben am [redacted] 1914.

M

LEVYSOHN AMSTERDAM

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.

QP501
.B58
v.59

CHEMISTRY LIBRARY

CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL
Does Not Circulate

LEESMUSEUM
AMSTERDAM

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **W. Loeb**-Berlin, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Rochmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Neunundfünfzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.

RIJKSMUSEUM
AMSTERDAM.

351325
QP501
.B58
v. 59

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Chem

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Ask, Fritz. Über den Zuckergehalt des Kammerwassers 1

Ask, Fritz. Über den Zucker im Humor aqueus beim Menschen . 35

Wehmer, C. Der Gang der Acidität in Kulturen von Aspergillus niger bei wechselnder Stickstoffquelle 63

Michaelis, L. und **H. Pechstein.** Die Wirkungsbedingungen der Speicheldiastase 77

Rona, P. und **Z. Bien.** Zur Kenntnis der Esterase des Blutes. V. . 100

Kondo, Kura. Ein experimenteller Beitrag zur Frage der Fettbildung aus Eiweiß bei der Reifung des Käses 113

Michaelis, L. Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut 166

Rona, P. und **G. G. Wilenko.** Beobachtungen über den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens 173

Ohta, Kohshi. Zur Kenntnis der biochemischen Reduktionsvorgänge in Hefezellen 183

Neuberg, C. und **H. Steenbock.** Über die Bildung höherer Alkohole aus Aldehyden durch Hefe. II. 188

Dakin, H. D. und **H. W. Dudley.** Über „Glyoxalase", ein Enzym, das Milchsäure aus Methylglyoxal bildet 193

Neuberg, C. Bemerkung zu den voraufgehenden Auslassungen von Dakin und Dudley 194

Loeb, Jacques und **R. Beutner.** Über die Bedeutung der Lipoide für die Entstehung von Potentialunterschieden an der Oberfläche tierischer Organe 195

Tschannen, Alfred. Der Glykogengehalt der Leber bei Ernährung mit Eiweiß und Eiweißabbauprodukten, ein Beitrag zur Frage der Funktion der Leber bei Verarbeitung von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten 202

Izar, Guido und **Giuseppe Di Zuattro.** Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten. II. Über einige Verbindungen der Fettsäuren mit Proteinen 226

Izar, Guido und **Paolo Ferro.** Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten. III. Mannitester 234

Izar, Guido und **Paolo Ferro.** Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten. IV. Cholesterinester . . 236

Izar, Guido und **Paolo Ferro.** Über Lipoproteine. III. Hämolytische Wirkung der Lipoproteine 238

Izar, Guido und **Paolo Ferro.** Über Lipoproteine. IV. Verhalten gegenüber Blutserum verschiedener Tierarten 244

Izar, Guido und **Prospero Mammana.** Über Lipoproteine. V. Imunisierungsversuche 247

Seite

Herzfeld, E. Versuche mit Triketohydrindenhydrat 249

Krogh, A. und **J. Lindhard.** Über die von den Respirationsbewegungen bedingten Schwankungen des Gaswechsels und Blutstroms in den Lungen des Menschen 260

Hanschmidt, E. Zur Wirkung von Eidotteremulsionen auf den tierischen Organismus 281

Falk, Margarete. Über die Einwirkung von Serum auf Ureasen (spezifische Auxoureasen) 298

Falk, Margarete. Über das Schicksal der Soja-Urease im normalen und im vorbehandelten Organismus 316

Tschmeneff, N. Über Eiweißspeicherung in der Leber 326

Hermanns, Leo. Über den Abbau der Fettsäuren im Tierkörper . . 333

Spiro, K. Zu den Bemerkungen von H. Pechstein über die Salzfällung der Kolloide 337

Saneyoshi, S. Vergleichende Untersuchungen über den Eisengehalt von Leukocyten und Lymphocyten 339

Kamman, O. Anaphylaxie und Heilsera 347

Sassa, Renpei. Zur Frage der Glykokollsynthese im Organismus . . 353

Sassa, Renpei. Über den Oxybuttersäuregehalt der Organe normaler und diabetischer Individuen 362

Sabbatani, L. Über die Wirkung des kolloiden Schwefels je nach dem Wege seiner Einführung in den Organismus 378

Sabbatani, L. Wirkung der auf chemischem Wege bereiteten kolloiden Kohle 408

Medak, Emil. Beitrag zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitsbildern 419

Sasaki, Takaoki. Über die biochemische Umwandlung primärer Eiweißspaltprodukte durch Bakterien. I. 429

Iwao, Toku. Beiträge zur Kenntnis der intestinalen Autointoxikation. I. 436

Horsters, Hans. Über die Einwirkung von Milchschimmel auf Phenylaminoessigsäure 444

Leimdörfer, Alfred. Über den Einfluß der intravenösen Infusion von sauren, alkalischen und Neutralsalz-Lösungen auf den respiratorischen Stoffwechsel 451

Pauli, Wolfgang, Max Samec und **Erwin Strauß.** Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XVII. 470

Straub, Walter. Nachträgliche Berichtigung zu meiner Arbeit: „Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophanthinwirkung“ 496

Rosenthaler, L. Zur Kenntnis emulsinartiger Enzyme 498

Druckfehlerberichtigung 498

Autorenverzeichnis 499

Über den Zuckergehalt des Kammerwassers[1]).

Von

Fritz Ask.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut zu Lund.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1913.)

Mit 4 Figuren im Text.

Frühere Untersuchungen.

Der erste Hinweis auf die Gegenwart von Zucker im Humor aqueus der Säugetiere (Rind) findet sich bei Cl. Bernard[2]). Gegenüber gewissen anderen, widersprechenden Angaben [Michel und Wagner[3]), Gruenhagen[4]), Truc und Hédon[5]) u. a.] kann es jetzt als sichergestellt [Chabbas[6]), Jesner[7]), Prautz[8]) u. a.] betrachtet werden, daß die betreffende Flüs-

[1]) Vorläufig mitgeteilt auf dem VIII. nord. Kongreß f. innere Med. Lund, August 1913.

[2]) Leçons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. Paris 1859. (Die Zuckermenge wird als „assez grand" bezeichnet. Es wird nicht angegeben, wie der Nachweis des Zuckers geführt wurde.)

[3]) Physiol.-chem. Unters. d. Auges. v. Gräfes Archiv f. Ophthalmologie **32**.

[4]) Zur Chemie des Humor aqueus. Arch. f. d. ges. Physiol. **43**.

[5]) Sur la présence du sucre dans les milieux de l'œil à l'état normal ou pathologiques. Annales d'oculist. **111**.

[6]) Über die Sekretion des Humor aqueus in bezug auf die Frage nach den Ursachen der Lymphbildung. Inaug.-Diss. Königsberg 1878 u. Arch. f. d. ges. Physiol. **16**.

[7]) Der Humor aqueus des Auges in seinen Beziehungen zu Blutdruck und Nervenreiz. Ibid. **23**. — Zur Frage eines glykolytischen Fermentes. Berl. klin. Wochenschr. **29**.

[8]) Beiträge zum Chemismus des Glaskörpers und des Humor aqueus. Zeitschr. f. Biol. **31**.

sigkeit [nebst anorganischen Stoffen verschiedener Art, einer minimalen Menge von Eiweiß, saccharifizierendem Enzym (Leber[1]), Harnstoff, Paramilchsäure usw.[2])] in normalem Zustande stets auch Traubenzucker enthält[3]).

Die Zuckermenge wird indessen sehr verschieden angegeben. So von Wessely (1905)[4]) in seiner erschöpfenden Übersicht der früheren Spezialliteratur der Augenflüssigkeiten zu 0,05 %. Die Zahl entstammt wahrscheinlich Untersuchungen von Leber an Ochsenaugen (Titrierung mit Fehlingscher

---

[1]) Die Zirkulations- und Ernährungsverhältnisse des Auges. Gräfe-Sämischs Handb. d. ges. Augenheilk. II. Aufl. Leipzig 1903. (Der Zuckergehalt wird erhöht durch Digestion mit Stärkekleister.)

[2]) Vgl. näher u. a. Steindorff, Chemie des Augapfels in Oppenheimers Handb. d. Biochemie 2, Jena 1909. — Wessely, Der Flüssigkeits- u. Stoffwechsel des Auges usw. Ergebn. d. Physiol. 4. Jahrg. I. u. II. Abt. 1905. — Die Augenflüssigkeit nach den Ergebnissen der neueren biologischen Forschung. Sonderausgabe aus Ergebnisse der wissenschaftlichen Medizin. Leipzig 1911. — Rißling, Die physiologischen Schwankungen des osmotischen Druckes im normalen Tierserum mit besonderer Berücksichtigung der ... intraokularen Flüssigkeiten. Arch. f. Augenheilk. 59. — van der Hoeve, Osmotischer Druck und elektrische Leitfähigkeit von intraokularen Flüssigkeiten ... v. Gräfes Arch. f. Ophthalmologie 82.

[3]) Durch die Gärung, die Trommersche Probe, die Sachßesche Jodkali-Jodquecksilberlösung und das Polaristrobometer stellten Chabbas (l. c. 1878) und Jesner (l. c. 1880) fest, daß der Humor aqueus der Säugetiere (Mensch, Kaninchen, Hund, Schwein, Rind, Katze u. a.) Zucker enthält; dieser verschwindet vollständig 24 bis 48 Stunden nach dem Tode. In entsprechender Weise, wie Pickard (mit gewissen anderen, in dieser Arbeit ohne Literaturangaben erwähnten Autoren zit. nach Bang, Der Blutzucker, Wiesbaden 1913) 3 Jahre früher den Blutzucker identifiziert hatte, wurde von Prautz (l. c.) 1895 durch Darstellung des Osazons (Dextrosazons) aus den Augenflüssigkeiten von Ochsenaugen festgestellt, daß im Humor aqueus und in der Glaskörperflüssigkeit Zucker immer nachgewiesen werden kann, wenn nur die Augen ganz frisch zur Untersuchung kommen. Da außerdem Lävulose durch die Seliwanoffsche Reaktion nicht gefunden werden konnte, kann es sich wohl nur um Traubenzucker gehandelt haben. Es darf selbstverständlich nicht in Abrede gestellt werden, daß neben Zucker auch andere reduzierende Substanzen (in sehr geringen Mengen), wie sie Gruenhagen angibt und wie sie bekanntlich auch im Blute vorkommen, vorhanden sein können.

In der folgenden Darstellung werden indessen die Ausdrücke „Totalreduktion" und „Zuckergehalt" des Humor aqueus gleichbedeutend verwendet.

[4]) l. c.

Flüssigkeit). Jesner[1]) fand wieder durch den Polarisationsapparat bei verschiedenen Säugetieren 0,16 bis 0,20%, Kuhn[2]) auf demselben Wege nur 0,03 bis 0,04%, Starkenstein[3]) in späterer Zeit (1911) am normalen Kaninchen „die Zuckermenge in 0,2 ccm Kammerwasser[4]) zu gering, um (durch Reduktion nach Bang I) quantitativ bestimmt werden zu können"; an einem Hunde fand er 0,14% (vgl. unten S. 5).

Da einerseits die Augenflüssigkeiten verschiedener Tierspezies im ganzen nur sehr unbedeutende Differenzen in ihrer chemischen Zusammensetzung zeigen (Wessely[5]) und andererseits das Blutzuckerprozent normalerweise kaum solche erheblichen Variationen darbietet (Bang[6]), so ist es möglich, daß die beträchtlich wechselnden Angaben in bezug auf den Zuckergehalt des normalen Humor aqueus wenigstens teilweise auf fehlerhaften Untersuchungen, wohl in erster Linie auf ungenügender Beachtung der postmortalen Glykolyse, außerdem vielleicht auf mangelhaften Methoden, beruhen.

Eben die vielfach verwendete optische Methode erfreut sich keines guten Rufes. Zwar ist die Polarisation prinzipiell einfacher als die übrigen Zuckerbestimmungsmethoden, die praktische Ausführung aber, wie Bang[7]) für den Blutzucker näher entwickelt hat, ist gar nicht einfach.

Für die Gärung ist die Menge des Humor aqueus zu gering, wenn man nur ein Tier nimmt, und die Zuckerlösung jedenfalls so stark verdünnt und die gebildete Kohlensäure so gering, daß man sie nicht ohne weiteres bestimmen kann. Außerdem gibt es andere Substanzen als Zucker, die gärungsfähig sind, und andererseits kann eingewendet werden, daß der Zucker vielleicht nur unvollständig vergärt.

Es bleiben uns dann die Reduktionsmethoden übrig, die aber auch nicht, wie wir oben gesehen haben, genügende Zuverlässigkeit besitzen.

Unter abnormen Verhältnissen verändert sich der Zuckergehalt des Kammerwassers.

---

[1]) l. c.

[2]) Zur Chemie des Humor aqueus. Arch. f. d. ges. Physiol. **41**.

[3]) Der Mechanismus der Adrenalinwirkung. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **10**.

[4]) Bekanntlich ungefähres Volumen des normalen Augenkammerinhaltes beim mittelgroßen Kaninchen.

[5]) Der Flüssigkeits- und Stoffwechsel des Auges usw. l. c.

[6]) Der Blutzucker. Wiesbaden 1913.

[7]) l. c.

Im Hungerzustande (z. B. bei Kaninchen, die 36 bis 48 Stunden gehungert haben) soll der Zucker angeblich vollständig verschwinden [Chabbas[1]), Jesner[2]), Steindorff[3]) u. a.].

Starkenstein[4]) fand (nach Bang I) an einem nebennierenlosen Kaninchen im Kammerwasser des einen Auges 0,06% Zucker, in dem anderen Auge (nach Kohlenoxydvergiftung) „zu geringe Menge, um sich quantitativ bestimmen zu lassen". Wie oben erwähnt, fand er allerdings dasselbe auch am normalen Tier, und außerdem war die verwendete Methode zu diesem Zweck lange nicht zuverlässig genug[5]).

Im Jahre 1894 zeigten Truc und Hédon[6]) an durch Pankreasexstirpation oder Piqûre (bzw. durch Kombination von beiden) diabetisch gemachten Tieren, daß zwar die Linse nicht, aber Kammerwasser und Glaskörper positive Zuckerreaktionen geben (Fehling, Phenylhydrazin nach Fischer, die Gärungsprobe aber nicht); die Intensität der Reaktion schien in direkter Beziehung zu der Glucosurie und der Hyperglykämie zu stehen. Die beiden Forscher stellten bis zu höchstens 2‰ bzw. 2,5‰ reduzierende Substanz im Humor aqueus und Corpus vitreum fest: „ces chiffres toutefois, établis avec de faibles quantités de liquides, ne sont peut-être pas très rigoureux". An durch Pankreasexstirpation diabetisch gemachten Hunden hatten die Gebrüder Cavazzani[7]) schon 2 Jahre früher 0,3% Zucker im Humor aqueus gefunden (gegen 10% im Urin). Und noch viel früher (Leber 1875,

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) l. c.

[5]) Zu diesem ist noch zu bemerken, daß wenigstens der Blutzucker nach Nebennierenexstirpation bzw. bei Morbus Addisonii unverändert bleibt (oder jedenfalls unverändert bleiben kann). Vgl. Bang, l. c.

[6]) l. c. und: Note preliminaire sur la présence du glycose dans les milieux de l'œil chez les animaux sains et les animaux diabétiques. Comptes rendus hebdomadaires des séances et mémoires de la Soc. de Biologie, T. I. 10me Série. Die Untersuchungen wurden (wegen technischer Schwierigkeiten) nicht weitergeführt und sind nur vorläufig publiziert worden (briefliche Mitteilung).

[7]) Sulla presenza del glycosio nei mezzi diottrici durante il diabete sperimentale. Annali di Ottalm. 21. (Diese Forscher fanden auch Zucker innerhalb der Linse).

Carius 1863 u. a.[1]) wurde das Vorhandensein von Zucker im Kammerwasser von Diabetikern bei operativer Eröffnung der Vorderkammer durch qualitative Analysen dargetan. In vereinzelten Fällen (vgl. unten S. 40) sind auch quantitative Analysen des post mortem gewonnenen Kammerwassers von Diabetikern ausgeführt worden. Die Zuckerprozentangaben wechseln zwischen 0,06% und 0,50%.

Laut Heß[2]) großer Arbeit und der zusammenfassenden Übersicht von Steindorff[3]) schienen die Untersuchungen von Truc und Hédon noch im Jahre 1911 (bzw. 1909) von keinen anderen, genaueren Untersuchungen gefolgt zu sein, was übrigens vollauf erklärlich ist. Denn wie schon hervorgehoben, ließen sich wegen der Unvollkommenheit der bis jetzt verwendeten Makromethoden genauere quantitative Zuckerbestimmungen der aus einem Auge gewonnenen kleinen und schwach konzentrierten Flüssigkeitsmengen nur schwer machen.

Dies wird ebenfalls aus der Literatur der allerletzten Jahre bestätigt. Starkenstein[4]) (1911) stellte (beim Kaninchen, Hunde, Hahn) eine vermehrte Reduktion des Kammerwassers fest nach Kohlenoxydvergiftung, Äthernarkose, Asphyxie, Piqûre und zentraler Vagusreizung. Genaue Zuckerprozentzahlen werden aber nur in einem einzigen Falle angegeben, und zwar werden diese nach der (für solche Zwecke noch unzuverlässigen) früheren Methode von Bang gefunden: An einem Hunde vor und nach einer Kohlenoxydvergiftung mit Glucosurie resp. 0,14% und 0,65%; außerdem an einem Kaninchen (wo das präformierte Zuckerprozent nicht aufgefunden werden konnte) nach ähnlicher Vergiftung 0,47%[5]).

---

[1]) Leber, Über die Erkrankungen des Auges bei Diabetes mellitus. v. Gräfes Archiv f. Ophthalmologie **21**.

[2]) Pathologie und Therapie des Linsensystems. Gräfe-Sämischs Handb. d. ges. Augenheilk. III. Aufl. Leipzig 1911.

[3]) l. c.

[4]) l. c.

[5]) Laut späteren Untersuchungen von Bang und Stenström (Asphyxie und Blutzucker, diese Zeitschr. **50**) kann indessen eine sogar tödliche CO-Vergiftung oder Asphyxie ohne Hyperglykämie verlaufen und also, wie wir unten sehen werden, nach allem zu urteilen, auch ohne Vermehrung des Zuckergehaltes des Humor aqueus.

Kahn[1]) (1911) fand in Übereinstimmung mit Truc und Hédon, daß bei Glucosurien mit Hyperglykämie (nicht aber bei Phlorizindiabetes) auch die Reduktionskraft des Kammerwassers (für Fehlingsche Flüssigkeit) ansteigt. Er meinte, man könnte dies als Indicator der Hyperglykämie benutzen. Genaue, quantitative Analysen hat er aber nicht gemacht; und ohne solche könnte sich der erwähnte Vorschlag nur schwer einbürgern.

Freilich enthält Humor aqueus normalerweise die Salze des Serums in etwa denselben Prozentverhältnissen wie dort. Wir wissen ja indessen noch nicht, wie es sich diesbezüglich eben mit dem Zucker verhält. Und auch im Falle voller Übereinstimmung im physiologischen Zustande erlaubt dies durchaus nicht den Schluß, daß der Zuckergehalt des Kammerwassers bei Hyperglykämie genau dementsprechend vermehrt wird. Schon sind die allgemeinen Diffusionsverhältnisse von Zucker- und Salzlösungen verschieden. Zwar ist die Frage noch unentschieden, ob der Flüssigkeitsaustausch des intakten Auges, wie es Weiß[2]) versucht hat, ausschließlich durch osmotische Prozesse erklärt werden kann; aber jedenfalls ist der Flüssigkeitswechsel außerordentlich langsam [Leber und Pilzecker[4]), Uribe y Tronchoso[5]), Wessely[6]) u. a.], während sich große Fluktuationen des Zuckergehaltes im Blut verhältnismäßig schnell abspielen können. Außerdem besitzt ja das intraokulare Absonderungsorgan tatsächlich eine gewisse Retentionskraft nicht nur allen Eiweiß- und Antikörpern des Blutes gegenüber (wenn auch mit gewissen Differenzen unter diesen selbst), sondern auch in bezug auf mehr oder weniger leicht diffusible fremde krystal-

[1]) Eine Methode, sich rasch und einfach über das Verhalten des Blutzuckers zu orientieren. Centralbl. f. Physiol. **25**.

[2]) l. c.

[3]) Die Lehre von der intraokularen Flüssigkeitsströmung ist nicht begründet. Arch. f. d. ges. Physiol. **116**. — Der intraokulare Flüssigkeitswechsel. Zeitschr. f. Augenheilk. **25**.

[4]) Neue Untersuchungen über den Flüssigkeitswechsel des Auges. v. Gräfes Arch. f. Ophthalmol. **64**.

[5]) Recherches expérimentales sur la filtration de liquides salins et albumineux à travers la chambre antérieure, et son rôle dans la genèse du Glaucome. Annales d'oculist. **138**. — La filtration dans l'œil vivant et la nature véritable du Canal de Schlemm. Ibid. **142**.

[6]) l. c. und: Über den intraokularen Flüssigkeitswechsel. Zeitschr. f. Augenheilk. **25**.

linische Substanzen, wie Ferrocyankalium und Fluorescein [Löhlein[1]), Ehrlich: Wessely[2])]. Es wäre deshalb denkbar, daß auch abnorme Zuckermengen innerhalb des Blutes (deren Übergang ins Kammerwasser wohl mehr von den Gesetzen der Diffusion als von den des Flüssigkeitswechsels beherrscht wird) durch eine (vitale) Fähigkeit des Absonderungsorganes der Augenflüssigkeiten bzw. der Gefäßwände bis zu einem gewissen Grade dem Augeninnern ferngehalten werden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit.

Die Unmöglichkeit, den Blutzucker in kurzen Zwischenräumen systematisch zu untersuchen, ist jetzt, dank der neuen Mikromethode von Bang[3]), beseitigt worden. Diese Methode erlaubt eine genaue quantitative Zuckerbestimmung auch in stark verdünnten Lösungen und in geringen Flüssigkeitsmengen. Hierdurch war die Möglichkeit gegeben, die Verhältnisse des Zuckers im Kammerwasser zu studieren; ich habe deswegen gern der Aufforderung des Herrn Prof. Bang Folge geleistet, derartige Untersuchungen anzustellen. Als Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, in erster Linie folgende Fragen zu beantworten:

Welchen Gehalt von Zucker (reduzierenden Substanzen) besitzt das Kammerwasser normalerweise, und zwar im Vergleich mit dem Blutzucker?

Verschwindet der Zucker aus dem Kammerwasser bei Karenztieren (vgl. oben S. 4)?

Wie verändert sich bei Hyperglykämie der Zuckergehalt des Humor aqueus im Vergleich mit dem Blutzucker?

Technik.

Die Tierexperimente umfassen Normalversuche, Versuche an Karenztieren, Versuche bei alimentärer Hyperglykämie und Adrenalinhyperglykämie. Sie sind an ganz gesunden, für Laboratoriumszwecke früher nicht benutzten Tieren, hauptsächlich Kaninchen, ausgeführt worden. Die Versuche bei alimentärer Hyperglykämie wurden z. T. an Hungertieren (24 bis

[1]) Pharmakodynamische Gesetze im Stoffwechsel des Auges und seine Beziehungen zum Gesamtstoffwechsel. Arch. f. Augenheilk. 65.

[2]) Die Augenflüssigkeiten nach den Ergebnissen der neueren biologischen Forschung. l. c.

[3]) l. c. und: Ein Verfahren zur Mikrobestimmung von Blutbestandteilen. Diese Zeitschr. 49.

48 Stunden Hunger) gemacht, und zwar weil dabei die absolute Höhe des Blutzuckerwertes laut Bangs Beobachtungen manchmal etwas größer als bei wohlernährten Tieren wird. Sonst waren die Tiere, wenn nicht anders ausdrücklich bemerkt wird, bis zum Beginn des Versuchs gefüttert.

Bei den Versuchen mit alimentärer Hyperglykämie wurde der Traubenzucker in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde eingegeben, bei den Adrenalinversuchen die gewöhnliche käufliche Adrenalinlösung (1:1000) mit Ringerlösung zu 1:5000 verdünnt und den Tieren subcutan injiziert[1]).

Die Blutproben wurden den Ohrgefäßen entnommen. Für die Untersuchung von Plasma wurden etwas größere Blutmengen[2]) unter Umschütteln und Zusatz von Hirudin (um die Gerinnung zu verhindern) in kleinen Proberöhrchen aufgefangen. Zentrifugierung entweder nach höchstens 3stündiger Aufbewahrung im Eisschrank oder (in der Regel) sogleich. Solche größere Entnahmen können, um einer komplizierenden Hyperglykämie durch Aderlaß zu entgehen, an demselben Tiere höchstens nur 3 bis 4mal im Laufe von 8 bis 9 Stunden entnommen werden.

Die Vorderkammerpunktionen sind (unter Cocain- oder Holocainanästhesie) mit der feinen und wohlgespitzten Nadel einer kleinen Rekordspritze ausgeführt worden. Bei einmaliger Punktion stieß ich die Nadel in die periphere Vorderkammer, etwa wie bei der Diszission nach Kuhnt, hinein und ließ dieselbe vor der Iris und dieser parallel bis in das Pupillarfeld hineingleiten; Aussaugen des Humor aqueus unter sorgfältiger Vermeidung zu tiefer bzw. zu langsamer Aspiration[3]). Zum Erleichtern der Aspiration konstruierte ich, nach dem Modelle meines Staraspirators[4]), für den Kolben einer sorgfältig graduierten (Tuberkulin-)Rekordspritze eine Federanordnung, so daß der Kolben einfach durch Nachlassen mit dem Zeigefinger herausgezogen wurde[5]).

Bei wiederholten Punktionen benutzte ich eine etwas gröbere Nadel, die durch dieselbe Punktionsöffnung eingeführt wurde. Diese mußte also in solchen Fällen in der durchsichtigen Hornhaut gemacht werden. Dabei war partieller Verlust der Flüssigkeit nicht immer zu vermeiden.

---

[1]) Nach den Beobachtungen Erlandsens ist die Zuckerausscheidung nach Adrenalin geringer bei Sommerkaninchen, die kein Leberglykogen besitzen, als beim Wintertier. Gewisse äußere Umstände haben mir aber nicht gestattet, diese Untersuchungen bis zum Winter aufzuschieben.

[2]) Allerdings so wenig (2 bis 3 ccm), daß man kaum mit einer den Versuche komplizierenden Hyperglykämie durch Aderlaß zu rechnen braucht.

[3]) Bei Versuchen an Meerschweinchen, wo nur eine kleine Probe aus beiden Augen zusammen erhalten werden konnte, war die tiefe Aspiration nicht zu vermeiden.

[4]) Beschrieben in den Sitzungsber. d. ophthalmol. Ges. zu Kopenhagen 17. XII. 1913. Hospitalstidende 1914.

[5]) Das Instrument ist bei Stille-Werner, Stockholm, für einen Preis von 11 Mk. zu haben.

Die verschiedenen Proben des Blutes bzw. Plasmas und des Kammerwassers sind nach der von Bang angegebenen Methode behandelt worden: Aufsaugen in ein gewogenes (mit essigsaurem Wasser extrahiertes) dickes Löschpapierstückchen (10 × 20 mm, Gewicht etwa 100 mg), Wägen auf Torsionswage[1]), Überführung in ein Proberöhrchen; Zusatz von 7 ccm kochend heißer, mit 2 bis 3 Tropfen 40%iger Essigsäure versetzter KCl-Lösung (150 ccm konzentrierte Lösung + 70 ccm Wasser); die Glykolyse wird hierdurch verhindert, und alles Eiweiß koaguliert auf und in dem Löschpapier, während der Zucker nach und nach in die Lösung hinüberdiffundiert.

Mindestens $^1/_2$ Stunde nach dieser Vorbehandlung Überführung der Lösung in ein Jena-Kölbchen, Auswaschen des Papiers bzw. Proberöhrchens mit noch 4 ccm KCl-Lösung derselben Konzentration; Zusatz (zu diesen 11 ccm) von 3 ccm Kupferstammlösung (160 g $KHCO_3$, 100 g K_2CO_3, 66 g KCl und 100 ccm 4,4% $CuSO_4$ + 5 H_2O in 1 l Wasser); Kochen 2 Minuten; schnelle Abkühlung unter Verhütung der Luftoxydation[2]); Titration unter Kohlensäure (um die Luftoxydation zu vermeiden) mit $^n/_{100}$-Jodlösung (ca. 2 ccm 2% Kaliumjodatlösung, etwa 2 g Jodkalium und 10 ccm $^n/_{10}$-HCl verdünnt mit dest. Wasser zu 100 ccm) und 2 bis 3 Tropfen 1%ige Stärkelösung (in gesättigter KCl-Lösung) als Indicator.

Aus dem Verbrauch von Jodlösung wird die absolute Menge des Traubenzuckers durch Vergleich mit der von Bang aufgestellten Tabelle bzw. (bei größerem Jodverbrauch) Formel[3]) direkt gefunden und daraus die Prozentzahl berechnet.

Die entnommenen und in oben angegebener Weise vorbehandelten Proben sind unmittelbar oder höchstens nach einigen Stunden in fortgesetzter Arbeit genommen worden, immer unter Benutzung frisch zubereiteter Reagenzien.

Die Untersuchungsprotokolle werden als „Analytische Belege" angefügt. Wir können uns daselbst durch einen Blick auf die Ergebnisse der Analysen der Doppelproben von der Zuverlässigkeit der Titrationsmethode überzeugen. Die Titrationsfehler betragen nur ganz ausnahmsweise mehr als 0,01% bis höchstens 0,02%.

---

[1]) Der Wasserverlust durch Verdampfung zwischen Entnahme einer Probe und Wägung derselben ist beim Kammerwasser höher als beim Blut. Eine Blutprobe von 133 mg verliert im Laufe von 2 Minuten nur 2 mg ihres Gewichtes (Bang). Bei einer Probe von Kammerwasser in derselben Art von Filtrierpapier wie bei der Blutprobe habe ich aber eine Abnahme des ursprünglichen Gewichtes (127 mg) von etwa 6 mg nach 2 Min. festgestellt, die nach 6 Min. zu 12 mg angewachsen war. Allerdings ist diese Gewichtsabnahme so langsam, daß man dieselbe, wenn man schnell genug arbeitet, ruhig vernachlässigen kann.

[2]) Bang hat zu diesem Zwecke eine besondere Quetschzange konstruiert.

[3]) Der gesuchte Zucker in Milligramm = $(a : 2{,}2) - 0{,}01$, Jodverbrauch in ccm mit a bezeichnet.

Die Auszüge der Protokolle in den Texttabellen geben nur die wichtigsten Prozentzahlen wieder, bisweilen Mittelwerte verschiedener Analysen; dabei sind unwesentliche Ausgleichungen der Zeitangaben zu geraden Stunden, Halbstunden usw. gemacht worden.

Es sei mir bei dieser Gelegenheit erlaubt, meinem Freunde, Herrn Privatdozent Dr. Kj. O. af Klercker, dem ich die vorbereitende Einführung in die benutzte Titrationsmethode verdanke, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Zuckergehalt des Humor aqueus im normalen Zustande.

Welches ist der normale Zuckergehalt des Kammerwassers, und zwar im Vergleich mit dem Blutzucker? Über diese Frage geben folgende Untersuchungen an verschiedenen Säugetieren Auskunft:

		Blutzucker %	Zucker des Kammerwassers %	Relation
1	Kaninchen	0,11	0,11	1 : 1,0
1	„	0,13	0,13	
4	„	0,12	0,13	1 : 1,1
1	„	0,14	0,15	
2	„	0,14	0,16	
1	„	0,16	0,17	
4	„	0,10	0,12	1 : 1,2
1	„	0,11	0,13	
4	„	0,12	0,14	
1	„	0,14	0,17	
1	„	0,10	0,13	1 : 1,3
1	„	0,11	0,14	
3	„	0,12	0,15	
1	„	0,12	0,17	1 : 1,4
26	Kaninchen	**Mittel** **0,12**	**0,14**	**1 : 1,2**
1	Meerschweinchen	0,11	0,12	1 : 1,1
1	„	0,13	0,15	1 : 1,2
1	„	0,13	0,16	
3	Meerschw.	**Mittel** **0,12**	**0,14**	**1 : 1,2**
1	junge Katze	„ **0,13**	**0,15**	**1 : 1,2**
1	Schwein	„ **0,08**	**0,09**	**1 : 1,1**
1	Rind	„ **0,05**	**0,06**	**1 : 1,2**
1	Süßmilchkalb	„ **0,07**	**0,08**	**1 : 1,1**
1	Schaf	„ **0,08**	**0,09**	**1 : 1,1**

Wir sehen, daß der Zuckergehalt des Kammerwassers fast immer etwas, aber unbedeutend, höher als der des Blutes ist. Das Verhältnis zwischen den beiden ist aber kein konstantes.

Nicht nur zwischen verschiedenen Tierspezies, sondern auch unter verschiedenen Tieren derselben Art kommen ziemlich beträchtliche Variationen vor. Beim Kaninchen schwankt die Relation des Blutzuckerprozentes zum Zuckergehalt des Humor aqueus zwischen 1 : 1 und 1 : 1,4, beträgt meistens 1 : 1,1 bis 1 : 1,2 und durchschnittlich 1 : 1,2.

Zur Erklärung dieser Tatsachen ist in erster Linie die Verteilung der reduzierenden Substanzen des Blutes zwischen Formelementen und Plasma zu berücksichtigen; denn der Zucker des Kammerwassers wird offenbar zunächst vom Plasma aufgenommen. Über die betreffende Frage herrscht aber zurzeit noch keine Einigkeit. Lyttkens und Sandgren[1]), die nach Bangs früherer Methode (Bang I) den Zuckergehalt des Kaninchenblutes vor und nach der Gärung untersuchten, stellten fest, daß die Blutkörperchen unvergärbare, reduzierende Stoffe enthalten; gewisse andere Autoren haben Zucker in wechselnder Menge gefunden, andere wieder denselben gänzlich vermißt[2]). Am nächsten liegt wohl die Annahme, daß die Blutkörperchen ein in verschiedenen Fällen variierendes Vermögen besitzen, Zucker (bzw. reduzierende Substanz) aufzunehmen.

Es war deshalb nicht genügend, die Verhältnisse des Zuckergehalts des Vollblutes und des Humor aqueus auseinanderzusetzen; auch das Plasma mußte untersucht werden[3]):

		Zucker des Vollblutes	Zucker des Plasmas	Zucker des Kammerwassers	Relation
		%	%	%	
1	Kaninchen	0,12	0,13	0,13	1 : 1,1 : 1,1
1	„	0,16	0,17	—	
1	„	0,10	0,12	—	1 : 1,2 : 1,2
1	„	0,11	0,13	0,13	
1	„	0,11	0,13	—	
1	„	0,12	0,14	0,14	
2	„	0,12	0,14	—	
1	„	0,10	0,13	0,12	1 : 1,3 : 1,2
1	„	0,12	0,17	—	1 : 1,4 : —
10 (4)	**Kaninchen Mittel**	**0,12**	**0,14**	**0,13**	**1 : 1,2 : 1,2**

[1]) Über die Verteilung der reduzierenden Substanzen im Kaninchenblut. Diese Zeitschr. **26**.

[2]) Vgl. näher Bang, Der Blutzucker.

[3]) Methodik vgl. oben S. 8.

Wir finden zwischen Vollblut und Plasma dieselben Variationen des Zuckergehalts wieder, wie zwischen ersterem und dem Kammerwasser. Weiter sehen wir, daß einerseits der Zuckergehalt des Kammerwassers in nur einem von 4 Fällen etwas niedriger gefunden wurde als der des Plasmas, in den übrigen aber gleich; und andererseits stimmen die aus 10 Untersuchungen gefundenen durchschnittlichen Prozentzahlen des Plasmas (0,14 %) mit denen des Kammerwassers bei den obigen (S. 10) 26 Untersuchungen genau überein. Die entsprechende Zuckerprozentzahl des Vollblutes war ebenfalls in beiden Serien die nämliche (0,12 %). Wir sind wohl somit berechtigt, anzunehmen, daß der normale Zuckergehalt des Kammerwassers mit dem des Plasmas ziemlich genau übereinstimmt.

Es war hiernach zu erwarten, wie wir es auch in den meisten der folgenden Untersuchungen bestätigt finden, daß das nach Ausleerung der Vorderkammer neugebildete, sekundäre Kammerwasser denselben Zuckergehalt besitzt wie das primäre (bzw. das Plasma).

	Zucker des Vollblutes	Zucker des Plasmas	Zucker des prim. Kammerwassers	Zucker des sek. Kammerwassers
	%	%	%	%
1 Kaninchen .	0,10	—	0,13	0,13
1 „ .	0,11	0,13	0,13	0,13
1 „ .	0,10	0,13	0,12	0,15[1])
1 „ .	0,12	0,14	0,14	0,14
1 junge Katze	0,13	—	0,15	0,15

Zusammenfassung.

Der normale Zuckergehalt des Vollblutes verhält sich zwar meistens zu dem des Kammerwassers wie 1:1,1 bis 1,2. Der erstere gibt indessen für den letzteren kein ganz zuverlässiges Maß ab[2]). Vielmehr können bedeutende Schwankungen der Relation zwischen beiden vorkommen (1 : 1 bis 1 : 1,4). Zur Erklärung hierfür kommt ein (im Vergleich mit dem Zuckergehalt des Gesamtblutes) variierendes Vermögen der Blut-

[1]) Vgl. Anmerkung beim Versuche 13 mit alimentärer Hyperglykämie. Analytische Belege, S. 48.

[2]) Und vice versa (vgl. Kahn, S. 6).

körperchen, Zucker aufzunehmen, in Betracht; denn der Zuckergehalt des Plasmas stimmt mit dem des Humor aqueus ziemlich genau überein, während derselbe im Vergleich mit dem des Vollblutes ähnliche Schwankungen zeigt, wie der des Kammerwassers.

Das primäre und das nach Punktion der Vorderkammer neugebildete, sekundäre Kammerwasser besitzen unter im übrigen normalen Verhältnissen den gleichen Zuckergehalt.

Zuckergehalt des Humor aqueus bei Karenztieren.

Die Angabe älterer und neuerer Autoren, der Zucker sollte nach $1^1/_2$ bis 2 Hungertagen aus dem Kammerwasser verschwinden (vgl. oben S. 4), kam mir von vornherein zweifelhaft vor. Zwar wissen wir, daß die Hungertage in der Diabetestherapie von großer Bedeutung sind, um abnorm hohe Blutzuckerwerte herunterzubringen (Leire, Forsheim[1]). Wir wissen aber auch, daß der normale Traubenzuckergehalt des Blutes unabhängig vom Hunger ist; daß Hungertiere und gut ernährte Kaninchen bei Adrenalinversuchen etwa dieselben Zuckermengen ausscheiden und daß die Hyperglykämie bei den ersteren ebenso hoch wird wie bei den letzteren (Bang).

Dementsprechend ergaben zwei Versuche an Kaninchen (vgl. Näheres unter Analytische Belege, S. 44 und auch die präformierten Prozentzahlen bei den Versuchen 6 und 14 mit alimentärer Hyperglykämie, die an Hungertieren ausgeführt worden sind) nach resp. 44 und 100 Stunden Hunger resp. 0,11% und 0,13% bzw. 0,11% und 0,12% Zucker für Vollblut und Kammerwasser.

Die fehlerhaften Beobachtungen der früheren Untersucher sind wohl auf ungenügende Beachtung der postmortalen Glykolyse zurückzuführen.

Zusammenfassung.

Der Zucker des Humor aqueus bietet nach sogar 100stündigem Hunger vollständig normale Prozentzahlen (entgegen Chabbas, Jesner, Steindorff u. a.).

---

[1]) Blodsockerstudier vid diabetes. Verhdl. d. VIII. Nord. Kongr. f. inn. Med. Lund, August 1913.

Zuckergehalt des Humor aqueus bei experimenteller Hyperglykämie.

Wir haben oben gesehen, daß der normale Zuckergehalt des Kammerwassers mit dem des Plasmas ziemlich genau übereinstimmt. Bisweilen kommen jedoch gewisse geringe Verschiedenheiten vor. Zwar liegen diese innerhalb der Grenzen des Titrationsfehlers, sie können aber auch anders erklärt werden: Teils sind ja die resp. Proben des Plasmas und des Kammerwassers nicht ganz gleichzeitig entnommen, teils muß andererseits eine Veränderung der Zuckerkonzentration des Humor aqueus eine gewisse Zeit in Anspruch nehmen; und der Zuckergehalt des Plasmas zeigt bei demselben Individuum schon in normalem Zustande ziemlich beträchtliche, bisweilen schnell einsetzende Variationen.

Wir wissen nämlich, hauptsächlich durch Bangs Untersuchungen, daß sich im Blute solche Schwankungen des Zuckergehaltes physiologisch abspielen, und zwar mit Vermehrung des Zuckers besonders nach kohlenhydratreichen Mahlzeiten[1]) und nach psychischer Erregung. Im ersteren Falle haben wir es mit einer Resorptionshyperglykämie zu tun, im letzteren wahrscheinlich mit einer physiologischen Adrenalinhyperglykämie[2]). Beständige geringe Schwankungen des Zuckergehaltes kommen sogar in verschiedenen Gefäßgebieten vor, oder durch die Außentemperatur, Arbeit und Ruhe usw. bedingt.

I. Alimentäre Hyperglykämie.

Wie verhält sich denn der Zuckergehalt des Kammerwassers bei alimentärer Hyperglykämie?

Zur Beantwortung dieser Frage wollen wir zuerst den Zuckergehalt des Gesamtblutes und den des Humor aqueus in folgenden 10 Versuchen vergleichen.

---

[1]) Vgl. auch die kürzlich erschienene Arbeit von Jacobsen: Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Nahrungsmittel auf den Blutzucker bei normalen, zuckerkranken und graviden Personen. Diese Zeitschr. 56.

[2]) Vgl. unten S. 21.

Tabelle I.

Alimentäre Hyperglykämie.

(Eingeführte Zuckermenge 10 g.)

Kaninchen		Präform.		Nach 1 Std.		Nach 2 Std.		Nach 3 Std.		Nach 4 Std.		Nach 5 Std.	
Nr. des Versuchs (vgl. Analytische Belege)	Gewicht	Zuckerproz.		Zuckerproz.		Zuckerproz.		Zuckerproz.		Zuckerproz.		Zuckerproz.	
	g	des Blutes	des Kammerw.	des Blutes	des Kammerw.	des Blutes	des Kammerw.	des Blutes	des Kammerw.	des Blutes	des Kammerw.	des Blutes	des Kammerw.
1	2925	0,12	—	0,22	—	0,18	0,22	0,20	—	0,16	0,21	0,15	—
2	2100	0,13	—	0,31	0,27	0,28	—	0,16	—	0,16	0,18	0,16	— (5½ Std.)
3	2500	0,11	—	0,28	—	0,25	—	0,19	0,25	0,17	—	0,12	0,13
4	2500	0,12	0,15	0,26	0,28	0,23	—	0,13	—	0,12	—	0,11	—
7	1700	0,12	0,15	0,17	0,23	0,23	—	0,21	—	0,19	—	0,14	—
5	2400	0,12	0,14	0,21	—	0,20	0,24	0,18	—	0,16	—	0,13	—
8	1700	0,14	0,17	0,20	—	0,20	0,23	0,19	—	0,13	—	—	—
6	2550	0,13	0,13	0,24	—	0,27	—	0,19	0,19	0,13	—	0,12	—
9	1575	0,14	0,16	0,19	—	0,22	—	0,17	—	0,16	0,19	0,12	—
10	1750	0,11	0,13	0,20	—	0,20	—	0,16	—	0,14	—	0,13	0,14
Summe		1,24	1,03	2,28	0,78	2,26	0,69	1,78	0,44	1,52	0,58	1,18	0,27
Mittel[1]		0,12	0,15	0,23	0,26	0,23	0,23	0,18	0,22	0,15	0,19	0,13	0,14

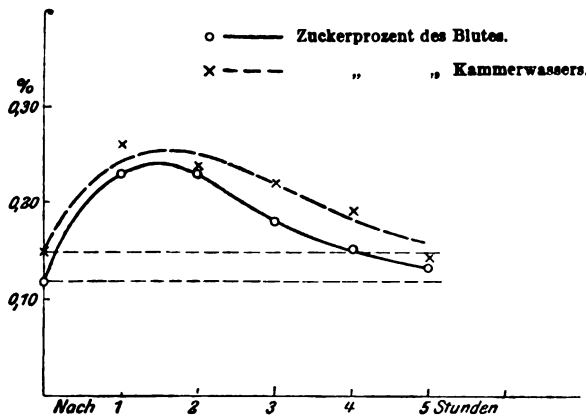


Fig. 1. Graphische Darstellung der durchschnittlichen Prozentzahlen der Tabelle I.

[1]) Bei dieser Mittelberechnung ist keine Rücksicht auf das verschiedene Gewicht der Versuchstiere genommen, und zwar weil es sehr fraglich ist, ob und inwieweit sich eine bestimmte Relation zwischen der eingeführten Zuckermenge und dem Gewicht des Tieres in bezug auf die Hyperglykämie geltend macht. Wir sehen z. B. in Versuch 1 (vgl. Analytische Belege, S. 44), daß dieselbe Zuckerdosis einmal eine Hyperglykämie zu 0,29% hervorruft und 8 Tage später bei demselben Tiere nur zu 0,22%. Versuchsweise habe ich indessen bei sämtlichen dieser 10 Experimente (je für sich) die effektiven Zahlen der Zuckerprozente auf die ent-

Die eingegebene Dextrose rief in den untersuchten Fällen eine ziemlich beträchtliche Hyperglykämie (0,20% bis höchstens 0,31% und durchschnittlich 0,23%) hervor. Wir sehen (vgl. nebst Tabelle I, bzw. der graphischen Darstellung derselben, auch die graphische Darstellung der Primärtabellen, S. 47), daß die Steigerung des Blutzuckers sehr schnell erfolgt; sie erreicht in der Regel schon nach 1 Stunde ihr Maximum, hält sich 1 Stunde auf der Höhe und sinkt dann im Laufe der folgenden 1 bis 3 Stunden auf den Anfangswert wieder zurück.

Die Anhäufung von Zucker innerhalb des Blutes wird unmittelbar von einer Zunahme des Zuckergehaltes des Humor aqueus gefolgt sein. Nach diesen Untersuchungen (bei deren Beurteilung allerdings die bedeutende individuelle Variation dem hyperglykämiehervorrufenden Mittel gegenüber nicht außer acht gelassen werden darf) erreicht der Zuckergehalt des Kammerwassers sehr bald sein Maximum, wohl sicher im Laufe der ersten 2 Stunden nach der Eingabe des Traubenzuckers[1]). Er sinkt dann in entsprechender Weise wie der Blutzucker, aber etwas langsamer, zum Anfangswert zurück.

Die größte Differenz zwischen dem Zuckerprozent des Blutes und des Kammerwassers entspricht also dem absteigenden Schenkel der Blutzuckerkurve. Wie wir uns aber durch einen Blick auf die einzelnen Versuche der Tabelle I überzeugen können, ist die Relation zwischen dem Zuckergehalt des Blutes und dem des Kammerwassers ebensowenig im Laufe der Hyperglykämie, wie bei den früheren Normalversuchen, konstant. Wir finden wenigstens 1 Stunde nach der Zuckereingabe in einem Falle 0,31% Zucker im Blute und 0,27% im Kammerwasser (Relation 1:0,9), in einem anderen resp. 0,26% und 0,28% (1:1,1), in einem dritten wieder 0,17% und 0,23% (1:1,4). In den beiden letzterwähnten Fällen waren die prä-

sprechenden (berechneten) für ein Kaninchen von 2000 g (und 10 g Dextrose) reduziert. Durchschnittlich ergab diese Reduktion nach 1 bis 5 Stunden (die präformierten Zahlen bleiben natürlich ohne Veränderung) resp. 0,24%, 0,24%, 0,18%, 0,15% und 0,13% Blutzucker und dementsprechend 0,27%, 0,25%, 0,25%, 0,20% und 0,14% Zucker des Kammerwassers, allerdings keine wesentlichen Änderungen der oben gefundenen Durchschnittszahlen.

[1]) Die Untersuchungen von Löhlein (l. c) ergaben als zeitliche Differenz 1 Stunde zwischen höchster Konzentration gewisser eingeführter Arzneimittel im Blut und Kammerwasser.

formierten Zahlen ganz identisch, resp. 0,12% und 0,15% (1:1,3), die Steigerung des Blutzuckers dagegen im ersteren auffallend hoch, im letzteren aber nach 1 Stunde noch sehr niedrig. Nach 2 Stunden, fortwährend auf der Höhe der Hyperglykämie, ergaben 3 Versuche die entsprechenden Prozentzahlen 0,18% und 0,22%, 0,20% und 0,24%, 0,20% und 0,23%, in den beiden letzterwähnten gegen präformiert resp. 0,12% und 0,14%, bzw. 0,14% und 0,17%, durchgehend also eine Relation von 1:1,2.

Außer dem Flüssigkeitswechsel des Auges bzw. rein osmotischen Vorgängen haben wir bei der Beurteilung der gegenseitigen Veränderungen des Zuckergehaltes des Gesamtblutes und des Kammerwassers wieder die wechselnde Fähigkeit der Formelemente des Blutes, Zucker zu binden, in Betracht zu ziehen. Es ist ja z. B. möglich, daß eben in Fällen, wo die Blutkörperchen im Laufe des Versuchs nur langsam und in geringem Maße Zucker aufnehmen, der Zuckergehalt des Kammerwassers (der zunächst aus dem Plasma stammt), im Vergleich mit dem einer äquivalenten Menge des Vollblutes (wo die Formelemente zu etwa 40% geschätzt werden können) verhältnismäßig hoch erscheint.

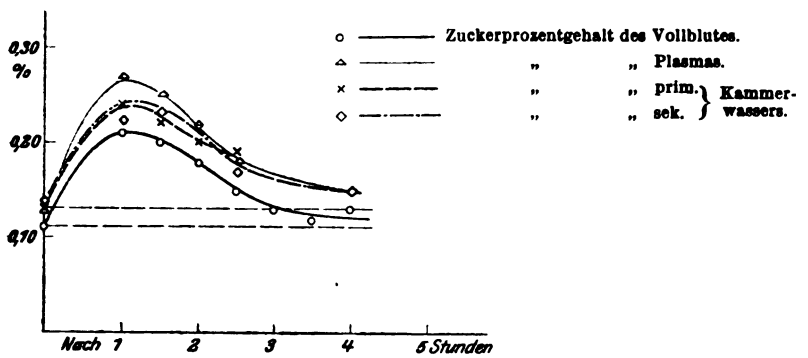


Fig. 2. Graphische Darstellung der durchschnittlichen Prozentzahlen nach der Tabelle II[1]) auf S. 18.

Deshalb war es notwendig, ebenfalls bei der Hyperglykämie den Zucker des Kammerwassers nicht nur mit dem des Gesamtblutes, sondern auch mit dem des Plasmas zu vergleichen:

[1]) Es sind nur die Werte für jede halbe Stunde punktiert, die übrigen Beobachtungen sind in diesen Zahlen durch Mittelberechnungen mitgenommen.

Tabelle II.

Alimentäre Hyperglykämie.

Vergleich zwischen dem Zuckergehalt des Vollblutes, des Plasmas und des Kammerwassers.

Kaninchen			Zeit nach der Einführung des Traubenzuckers	Zuckerprozente			
				des Blutes		des Kammerwassers	
Nr. des Versuchs (vgl. Analytische Belege)	Gewicht g	Eingeführte Zuckermenge mg		Vollblut	Plasma	primäres	sekundäres
11	1975	10	Präf.	0,12	0,14	0,14	0,14
			1 Std.	0,23	0,25	0,24	—
			1¼ „	—	—	—	0,22
			2 „	0,18	—	—	—
			3 „	0,15	—	—	—
			4 „	0,13	0,15	—	0,15
12	2000	10	Präf.	0,11	0,13	0,13	0,13
			¾ Std.	0,23	0,24	0,21	—
			2 „	—	—	—	0,25
			5 „	0,12	—	—	—
13	1950	10	Präf.	0,10	0,13	0,12	0,15 [1]
			½ Std.	0,20	0,25	0,21	—
			¾ „	—	—	—	0,21
			2 „	0,20	—	—	—
			3 „	0,12	—	—	—
14	2100	10	Präf.	0,11	0,13	—	—
			1 Std.	0,20	0,29	—	—
			1¼ „	—	—	0,24	—
			1½ „	—	—	—	0,25
			2 „	0,17	0,23	0,21	—
			2¼ „	—	—	—	0,19
			3 „	0,11	—	—	—
15	2000	10	Präf.	0,12	0,14	—	—
			1 Std.	0,19	—	—	—
			1½ „	0,18	0,25	0,22	—
			¾ „	—	—	—	0,21
			2¼ „	0,15	0,18	0,19	—
			2½ „	—	—	—	0,15
			¾ „	0,15	—	—	—
			¾ „	0,12	—	—	—

Bei den Einzelversuchen stellen wir (vgl. nebst Tabelle II bzw. der graphischen Darstellung derselben auch die graphische Darstellung der Primärtabellen S. 50) auf der Höhe der Hyper-

[1]) Vgl. die Anmerkung in der Primärtabelle S. 48.

glykämie folgende Relationen zwischen den resp. gefundenen Zuckerprozentzahlen fest[1]):

	Zucker des Vollblutes %	Plasmas %	prim. Kammerwassers %	sek. Kammerwassers %	Relation
Vers. 12	0,23	0,24	0,21	0,25	1:1,0:0,9:1,1
(Präf.	0,11	0,13	0,13	0,13	1:1,2:1,2:1,2)
„ 11	0,23	0,25	0,24	0,22	1:1,1:1,0:1,0
(Präf.	0,12	0,14	0,14	0,14	1:1,2:1,2:1,2)
„ 15 ($2^1/_4$ Std.)	0,15	0,18	0,19	0,15	1:1,2:1,3:1,0
(Präf.	0,12	0,14	—	—	1:1,2:—:—)
„ 13	0,20	0,25	0,21	0,21	1:1,3:1,1:1,1
(Präf.	0,10	0,13	0,12	0,15	1:1,3:1,2:1,5)
„ 14 (2 Std.)	0,17	0,23	0,21	0,19	1:1,4:1,2:1,1
(Präf.	0,11	0,13	—	—	1:1,2:—:—)
„ 15 ($1^1/_2$ Std.)	0,18	0,25	0,22	0,21	1:1,4:1,2:1,2
(Präf.	0,12	0,14	—	—	1:1,2:—:—)
„ 14 (1 Std.)	0,20	0,29	0,24	0,25	1:1,5:1,2:1,3
(Präf.	0,11	0,13	—	—	1:1,2:—:—)
Mittel	0,19	0,24	0,22	0,21	1:1,3:1,2:1,1
(Präf.	0,11	0,13	0,13	0,14	1:1,2:1,2:1,3)

Es scheint, als könnten Vollblut und Plasma in bezug auf den Zuckergehalt zwar ihre gegenseitigen präformierten Proportionen auch während der Hyperglykämie annähernd behalten; in gewissen Fällen geht aber der Zuckergehalt des Plasmas verhältnismäßig etwas stärker in die Höhe; m. a. W. der Überschuß von Zucker wird in relativ höherem Maße vom Plasma als von den Formelementen aufgenommen.

Anscheinend kann auch während der Hyperglykämie der Zuckergehalt des Kammerwassers mit dem des Plasmas gleich hoch werden, in anderen Fällen aber — und zwar wenn das letztgenannte einen relativ großen Überschuß von Zucker enthält — hinter dem des Plasmas zurückbleiben.

Dabei ist von besonderem Interesse, zu bemerken, daß dies nicht nur in bezug auf das primäre Kammerwasser zutrifft, sondern wohl auch in bezug auf das (sogleich nach der Ab-

[1]) Selbstverständlich werden solche Zusammenstellungen, wie die folgende, durchaus unter Vorbehalt mitgeteilt, und zwar besonders der Fehlerquelle gegenüber, daß die höchsten registrierten Prozentzahlen keineswegs mit dem absoluten Maxima identisch zu sein brauchen. Die Berechnung der Relationen mit mehr als einer Dezimale erschien mir im Vergleich mit der Zuverlässigkeit der Zuckerbestimmungsmethode zu weitgehend.

sonderung untersuchte) sekundäre. Denn auch wenn hier die Möglichkeit einer gewissen Zumischung dem Glaskörper entstammender Flüssigkeit nicht in Abrede gestellt werden darf, so muß doch das sekundäre Kammerwasser hauptsächlich von dem gerade stark zuckerhaltigen Plasma geliefert werden. Und eine ausgleichende Diffusion zwischen Kammerwasser und Glaskörper ist wahrscheinlich keine so sehr beträchtliche. Wenigstens ergaben die mehrerwähnten Untersuchungen von Löhlein, daß die Konzentration leichtdiffusibler Arzneimittel innerhalb des Glaskörpers bedeutend niedriger bleibt als in dem Kammerwasser. Zwar erübrigt noch, den Glaskörper eben in bezug auf den Zuckergehalt näher zu untersuchen.

Es erscheint aus dem Angeführten wahrscheinlich, daß sich der (im Vergleich mit dem des Plasmas) relativ niedrigere Zuckergehalt des Kammerwassers nicht, jedenfalls nicht ausschließlich, auf die Langsamkeit des Austausches bzw. der Konzentrationsveränderung des Kammerwassers zurückführen läßt. Vielmehr könnte derselbe vielleicht als eine Bestrebung des Absonderungsorganes des Humor aqueus gedeutet werden, abnorme Zuckermengen des Plasmas dem Augeninnern fernzuhalten.

Wir kommen bei den Adrenalinversuchen, wo dieses Verhältnis viel deutlicher hervortritt, auf diese Frage zurück.

Hier soll aber noch bemerkt werden, daß die oben besprochenen Fälle zwar als alimentäre Hyperglykämie bezeichnet worden sind, daß indessen eine die Versuche komplizierende Adrenalinhyperglykämie durch psychische Erregung des Tieres auch nie mit Sicherheit ausgeschlossen werden darf, und zwar besonders nicht bei den Fällen mit höheren Blutzuckerwerten.

II. Adrenalinhyperglykämie.

Seit der Entdeckung der zuckerhervorrufenden Wirkung von Nebennierenextrakt (Blum 1901[1]) ist von verschiedenen Seiten (Polack, Starkenstein u. a.) versucht worden, wenn auch nicht immer einwandfrei[2]), die meisten Formen experimenteller Hyperglykämie als Adrenalinhyperglykämie zu erklären, indem durch Piqûre, durch Coffein (Diuretin) usw. eine Reizung des Sympathicus bewirkt wird. Gleichzeitig damit werden aber durch den Splanchnicusreiz auch die

[1]) Über Nebennierendiabetes. Deutsch. Arch. f. klin. Med. 71.
[2]) Vgl. näher Bang, l. c.

Nebennieren veranlaßt, ihr Adrenalin in den Blutkreislauf zu senden (was wieder auf die peripheren Sympathicusendigungen wirkt und dadurch den bereits vorhandenen Reiz verstärkt). Eine ähnliche Reizung erklärt wohl auch die zuerst (1910) von Cannon, Stahl und Wright beobachtete und später besonders von Bang[1]) hervorgehobene Hyperglykämie und Glucosurie durch psychische Erregung, denn nach Nebennierenexstirpation bleibt die Zuckerausscheidung aus. Wie oben (S. 14) bemerkt, haben wir somit schon unter physiologischen Verhältnissen mit einer Adrenalinhyperglykämie zu rechnen.

In den folgenden Versuchen werden wir den Zuckergehalt des Kammerwassers im Laufe der experimentellen Adrenalinhyperglykämie näher studieren.

Was zuerst den Blutzucker betrifft, so sehen wir (vgl. nebst nachstehender Tabelle III, bzw. deren graphischer Darstellung, auch die graphischen Darstellungen der Primärtabellen S. 56 und 60), daß derselbe im Laufe der ersten 2 Stunden nach der Adrenalininjektion sein Maximum (mit 0,50, 0,75 und 1,00 mg Adrenalin resp. 0,25%, 0,28% und 0,34%, in einem Falle außerdem 0,38%, und zwar, nach allem zu urteilen, durch Summation der Wirkung von 0,50 mg injiziertem Adrenalin und einer psychischen Hyperglykämie) erreicht; er hält sich noch 1 Stunde auf der Höhe und sinkt dann in den weiteren 3 bis 5 Stunden auf den Anfangswert zurück, wie es Bang beschrieben hat. In mehreren der Einzelfälle sinkt er sogar noch etwas tiefer; kleinere Fluktuationen kommen an den Kurven der einzelnen Versuche manchmal vor, besonders vielleicht gegen Ende des Versuches.

Der Zuckergehalt des Kammerwassers steigt in etwa entsprechender Weise wie bei der alimentären Hyperglykämie, erreicht sein Maximum binnen 1 Stunde nach dem Blutzucker und dauert etwas länger als die Hyperglykämie.

Unter dem Einfluß der Adrenalinwirkung scheint sich der Zuckergehalt des nach vorsichtiger Punktion der Vorderkammer neugebildeten sekundären Kammerwassers in etwa entsprechender Weise wie der des primären zu ändern. Wir finden jedoch, daß die Prozentzahlen (bei wiederholten Punktionen), dem aufsteigenden Schenkel und der Höhe der Blutzuckerkurve entsprechend, an-

[1]) l. c. und Verhndl. d. VIII. Nord. Kongr. f. inn. Med. Lund, August 1913.

Tabelle
Adrenalin-

Nr. des Versuchs (vgl. Analyt. Belege)	Kaninchen: Gewicht g	Injiz. Adrenalinmenge mg	Präform. Zuckerproz. des Blutes	Präform. Zuckerproz. des prim. Kammerw.	Präform. Zuckerproz. des sek. Kammerw.	Nach 1 Std. Zuckerproz. des Blutes	Nach 1 Std. Zuckerproz. des prim. Kammerw.	Nach 1 Std. Zuckerproz. des sek. Kammerw.	Nach 2 Std. Zuckerproz. des Blutes	Nach 2 Std. Zuckerproz. des prim. Kammerw.	Nach 2 Std. Zuckerproz. des sek. Kammerw.	Nach 3 Std. Zuckerproz. des Blutes	Nach 3 Std. Zuckerproz. des prim. Kammerw.	Nach 3 Std. Zuckerproz. des sek. Kammerw.	Nach 4 Std. Zuckerproz. des Blutes	Nach 4 Std. Zuckerproz. des prim. Kammerw.	Nach 4 Std. Zuckerproz. des sek. Kammerw.
1	1950		0,12	0,14	—	0,32	—	—	0,36	0,38	—	0,35	—	—	0,29	—	—
2	2325		0,13	—	—	0,23	—	—	0,30	0,26	—	0,26	—	—	0,23	—	—
3	2525		0,11	—	—	0,20	—	—	0,22	—	—	0,27	—	—	0,20	—	—
4	2000		0,10	0,12	—	0,24	0,26	0,27	0,26	—	0,35	0,25	—	0,35	0,21	—	0,28
5	2000	0,5	0,14	0,16?	—	0,17	0,21	0,23	0,16	—	0,24	0,18	—	—	0,17	—	$3^1/_2$ St. 0,23
6	2200		0,10	—	—	0,17	—	—	0,22	0,23	—	0,18	0,28	0,25	$4^1/_2$ St. 0,12	—	$4^1/_2$ St. 0,18
12	1800		0,12	0,15	—	0,30	0,29	—	0,30	—	—	0,27	—	—	0,18	—	—
14	1825		0,11	0,14	—	0,27	—	—	0,24	0,25	—	0,23	—	—	0,14	—	—
17	1800		0,10	0,12	—	0,23	—	—	0,21	—	—	0,23	—	—	0,18	—	—
	Summa		1,03	0,83	—	2,13	0,76	0,50	2,27	1,12	0,59	2,22	0,28	0,60	1,72	—	0,69
	Mittel[1])		0,11	0,14	—	0,24	0,25	0,25	0,25	0,28	0,30	0,25	0,28	0,30	0,19	—	0,23
7	1850	0,5	0,16	—	—	0,33	—	—	0,38	—	—	0,39	0,44	0,42	0,31	—	0,39
8	3000	0,75	0,10	0,13	0,13	—	—	—	0,27	—	0,34	$2^1/_2$ St. 0,33	—	—	0,27	—	0,35
13	1800		0,12	0,13	—	0,25	—	—	0,28	0,31	—	0,25	—	—	0,21	—	—
	Summa		0,22	0,26	0,13	0,25	—	—	0,55	0,31	0,34	0,58	—	—	0,48	—	0,35
	Mittel[1])		0,11	0,13	0,13	0,25	—	—	0,28	0,31	0,34	0,29	—	—	0,24	—	0,35
15	1900	1,0	0,14	0,15	—	0,30	—	—	0,35	—	—	0,32	0,37	—	0,24	—	—
16	2400		0,12	0,13	—	0,22	—	—	0,33	—	—	0,30	—	—	0,27	0,36	—
	Summa		0,26	0,28	—	0,52	—	—	0,68	—	—	0,62	0,37	—	0,51	0,36	—
	Mittel[1])		0,13	0,14	—	0,26	—	—	0,34	—	—	0,31	0,37	—	0.26	0,36	—

scheinend ein ganz wenig höher liegen, nicht nur als die des Gesamtblutes, sondern auch als die des primären Kammerwassers; dem absteigenden Schenkel der Blutzuckerkurve entsprechend wird das Verhältnis zwischen primärem und sekundärem Kammerwasser eher umgekehrt; das Maximum scheint im Laufe etwa

[1]) Zwar deuten die gemachten Versuche darauf hin, daß 1,00 mg Adrenalin eine bedeutend stärkere Hyperglykämie hervorrufen kann als die gewöhnliche nach der Hälfte dieser Dosis. Ob aber dabei eine Regelmäßigkeit besteht, so daß z. B. die Wirkung von 1,00 mg Adrenalin etwa die doppelte von 0,50 mg bei demselben Tier wäre, ist zweifelhaft. Wie bei den Versuchen der Tabelle I (vgl. Anm. S. 15/16) ist es demgemäß auch hier sehr fraglich, ob wir berechtigt wären, die effektiven Zahlen der gefundenen Zuckerprozente zu reduzieren. Eine solche, versuchsweise aus-

III.
hyperglykämie.

Nach 5 Std.			Nach 6 Std.			Nach 7 Std.			Nach 8 Std.			Nach 9½ Std.			Nach 10½ Std.		
Zuckerproz.			Zuckerproz.			Zuckerproz.			Zuckerproz.			Zuckerproz.			Zuckerproz.		
des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.	des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.	des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.	des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.	des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.	des Blutes	des prim. Kammerw.	des sek. Kammerw.
0,17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,12	0,18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,18	0,23	—	0,13	0,18	—	0,12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,17	—	0,23	0,10	—	0,15	0,11	—	0,14	0,11	—	0,15	—	—	—	—	—	—
0,17	—	0,20	—	—	6½ St. 0,16	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,13	—	—	0,11	—	0,16	0,12	—	6½ St. 0,15	0,11	—	0,13	—	—	—	—	—	—
0,14	—	—	0,11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,12	—	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,13	0,18	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1,33	0,59	0,43	0,71	0,18	0,47	0,35	—	0,29	0,22	—	0,28						
0,15	0,20	0,22	0,12	0,18	0,16	0,12	—	0,15	0,11	—	0,14						
0,26	—	0,36	0,22	—	0,27	0,18	—	0,27	0,15	—	—	9 St. 0,14	—	9 St. 0,22	0,15	0,24	0,21
—	—	—	0,20	—	0,19	—	—	—	0,13	—	0,15	0,11	0,13	—	0,11	—	0,14
0,17	—	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,17	—	—	0,33	—	0,19	—	—	—	0,13	—	0,15	0,11	0,13	—	0,11	—	0,14
0,17	—	—	0,17	—	0,19	—	—	—	0,13	—	0,15	0,11	0,13	—	0,11	—	0,14
0,18	—	—	0,12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,27	—	—	0,17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,45	—	—	0,29														
0,23	—	—	0,15														

derselben Zeit nach der Adrenalininjektion wie das Maximum der Blutzuckerkurve erreicht zu werden. Es läßt sich dies alles offenbar aus dem schnellen Flüssigkeitswechsel durch die

geführte Reduktion in sämtlichen Fällen der Tab. III (je für sich) zu einem Kaninchen von 2000 g Gewicht mit 0,5 mg Adrenalin ergab durchschnittlich:

nach	1 %	2 %	3 %	4 %	5 %	6 %	7 %	8 %	9½ %	10½ St. %
Blutzucker	0,23	0,25	0,25	0,20	0,16	0,14	0,14	0,13	0,13	0,13
Zucker d. prim. Kw.	0,25	0,27	0,27	0,26	0,21	0,20	—	—	0,13	0,17
Zucker d. sek. Kw. .	0,25	0,31	0,28	0,26	0,22	0,18	0,17	0,14	0,16	0,15

Dabei wurden außerdem die Prozentzahlen des Versuches 7, die wohl durch irgendeine Gelegenheitsursache, wahrscheinlich eine komplizierende psychische Hyperglykämie, durchgehend (auch präform.) abnorm hoch liegen, zu den Werten der übrigen Versuche herabreduziert.

wiederholten Punktionen erklären. Mit dem Aufhören der Adrenalinwirkung kehrt der Zuckergehalt des sekundären Kammerwassers nach etwa 8 Stunden auf den Anfangswert zurück.

Davon abgesehen herrscht indessen eine ziemlich nahe Übereinstimmung des Zuckergehaltes des primären und des nach vorsichtiger Punktion neugebildeten sekundären Kammerwassers auch bei der Hyperglykämie. Dies ist von Interesse, u. a. weil somit die Schwankungen des Zuckergehaltes des Humor aqueus im Laufe der Hyperglykämie (unter Berücksichtigung der soeben hervorgehobenen Verschiedenheiten) an ein und demselben Tiere durch wiederholte Untersuchungen verfolgt werden können (vgl. z. B. Vers. 7 der Tab. III).

Vergleichen wir jetzt die Relationen der gefundenen höchsten Zuckerprozentzahlen des Blutes und des Kammerwassers, die innerhalb des Maximums der Adrenalinhyperglykämie (2 bis 4 Stunden) an 11 Einzelversuchen registriert worden sind[1]):

	Zucker des Blutes	Zucker des Kammerwassers prim.	Zucker des Kammerwassers sek.	Relation
	%	%	%	
Vers. 2	0,30	0,26	—	1 : 0,9 : —
(Präf.	0,13	—	—	1 : — : —)
„ 14	0,24	0,25	—	1 : 1 : —
(Präf.	0,11	0,14	—	1 : 1,3 : —)
„ 1	0,36	0,38	—	1 : 1,1 : —
(Präf.	0,12	0,14	—	1 : 1,2 : —)
„ 7	0,39	0,44	0,42	1 : 1,1 : 1,1
(Präf.	0,16	—	—	1 : — : —)
„ 13	0,28	0,31	—	1 : 1,1 : —
(Präf.	0,12	0,13	—	1 : 1,1 : —)
„ 16	0,33	0,36	—	1 : 1,1 : —
(Präf.	0,12	0,13	—	1 : 1,1 : —)
„ 8	0,33	—	0,35	1 : — : 1,1
(Präf.	0,10	0,13	0,13	1 : 1,3 : 1,3)
„ 15	0,35	0,37	—	1 : 1,1 : —
(Präf.	0,14	0,15	—	1 : 1,1 : —)
„ 6	0,22	0,28	0,25	1 : 1,3 : 1,1
(Präf.	0,10	—	—	1 : — : —)
„ 4	0,26	—	0,35	1 : — : 1,3
(Präf.	0,10	0,12	—	1 : 1,2 : —)
„ 5	0,18	—	0,24	1 : — : 1,3
(Präf.	0,14	0,16	—	1 : 1,1 : —)
Mittel	0,29	0,33	0,32	1 : 1,1 : 1,2
(Präf.	0,12	0,14	0,13	1 : 1,2 : 1,1)

[1]) Selbstverständlich unter Verwahrung den Fehlerquellen gegenüber (vgl. oben S. 19).

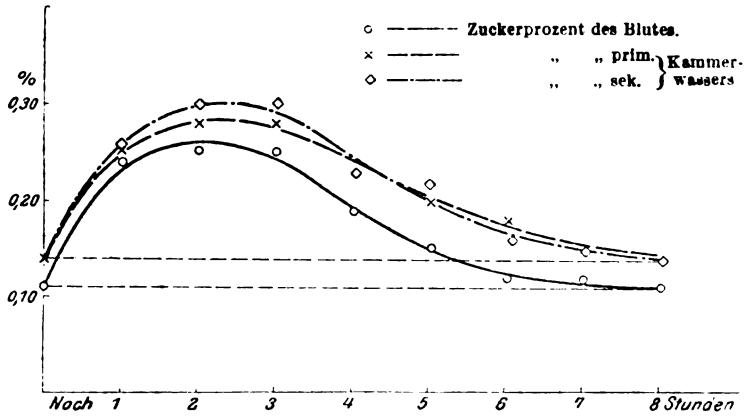


Fig. 3. Graphische Darstellung der durchschnittlichen Prozentzahlen der 9 ersten Versuche (0,5 mg Adrenalin) der Tabelle III.

Wir finden auf der Höhe der Adrenalinvergiftung durchschnittlich etwa dieselben Relationen zwischen Blutzucker und Zucker des Humor aqueus wie normalerweise (vor der Hyperglykämie) und in den Einzelfällen (wohl zum Teil wegen des variierenden Vermögens der Blutkörperchen, Zucker zu binden) ähnliche Schwankungen (1 : 0,9 bis 1 : 1,3). Insoweit gibt also das Blutzuckerprozent während der Hyperglykämie kein ganz zuverlässiges Maß für den Zuckergehalt des Kammerwassers — und vice versa, wie hinsichtlich des oben (S. 6) erwähnten Vorschlags von Kahn, das Kammerwasser zur Bestimmung der Hyperglykämie zu benutzen, bemerkt werden soll.

Bei den Normalversuchen haben wir den Zucker des (prim. und sek.) Kammerwassers mit dem des Plasmas etwa gleich gefunden; schon bei alimentärer Hyperglykämie stellten wir ja indessen fest, daß der Zuckergehalt der resp. Flüssigkeiten zwar gleich sein könne, daß aber der des Kammerwassers auch etwas niedriger bleiben kann.

Folgende Tabelle IV zeigt, daß dieser Unterschied bei der Adrenalinhyperglykämie viel deutlicher ausgesprochen ist.

Wie aus dieser Tabelle hervorgeht (vgl. nebst Tabelle IV auch die graphische Darstellung der Primärtabellen S. 62), werden nämlich die Prozentzahlen des Vollblutes, des Plasmas

Tabelle IV.

Adrenalinhyperglykämie.

Vergleich zwischen dem Zuckergehalt des Vollblutes, des Plasmas und des Kammerwassers.

Kaninchen			Zeit nach der Adrenalin-injektion	Zuckerprozente			
				des Blutes		des Kammerwassers	
Nr. des Versuchs (vgl. Analytische Belege)	Gewicht g	Injizierte Adrenalin-menge mg		Voll-blut	Plasma	pri-märes	sekun-däres
9	3200	1,0	Präf.	0,16	0,17	—	—
			1 Std.	0,33	—	—	—
			1½ „	0,43	—	0,36	—
			1¾ „	0,43	—	—	0,57
			2 „	0,58	—	—	0,60
			3 „	0,52	0,85	0,54	0,66
			3½ „	0,48	—	—	0,64
			4 „	0,49	—	—	—
			4½ „	0,39	—	—	—
			5 „	?	—	—	0,47
			5½ „	0,35	—	—	0,45 r. A. 0,54 l. A.
			5¾ „	0,35	—	—	0,44
			6 „	0,31	—	—	—
			9½ „	0,14	—	—	—
10	2900	0,5	Präf.	0,12	0,13	0,13	—
			1 Std.	0,18	—	—	—
			2 „	0,21	—	—	—
			3 „	0,23	0,38	0,29	0,28
			3½ „	0,25	—	—	0,31
			4½ „	0,20	—	—	—
			6 „	0,09	—	—	—
			7 „	0,09	0,15	—	0,12
			7¼ „	0,10	—	—	0,13
11	2150	0,75	Präf.	0,12	0,17	—	—
			1½ Std.	0,25	—	—	—
			3 „	0,30	0,48	0,35	0,42
			4½ „	0,24	0,34	0,32	0,32
			6½ „	—	—	—	—
			9 „	0,13	0,21	—	0,16
			9¼ „	—	—	—	0,17
18	3200	0,75	Präf.	0,12	0,14	—	—
			1 Std.	0,20	—	—	—
			1½ „	0,20	0,30	—	—
			2 „	—	—	0,24	0,26
			3 „	0,21	—	—	0,23
			3½ „	0,18	0,28	—	—
			3¾ „	—	—	0,23	0,20
			4 „	0,17	—	—	—
19	2500	0,75	Präf.	0,10	0,12	—	—
			1 Std.	0,17	—	—	—
			1½ „	0,24	0,38	0,31	0,32
			3¾ „	0,20?	0,37	0,31	0,32
			5 „	0,17	—	—	—

und des Kammerwassers sämtlich untereinander ziemlich verschieden[1]).

Aus den Einzelversuchen entnehmen wir folgenden Auszug, und zwar von den höchsten Zuckerprozenten auf der „Höhe der Adrenalinwirkung" ($1^1/_2$ bis $4^1/_2$ Std.):

	Zucker des Vollblutes %	Plasmas %	prim. Kammerwassers %	sek. Kammerwassers %	Relation
Vers. 11 ($4^1/_2$ Std.)	0,24	0,34	0,32	0,32	1:1,4:1,3:1,3
(Präf.	0,12	0,17	—	—	1:1,4:—:—)
„ 9	0,58	0,85	0,54	0,66	1:1,5:0,9:1,1
(Präf.	0,16	0,17	—	—	1:1,1:—:—)
„ 18 ($1^1/_2$ Std.)	0,20	0,30	0,24	0,26	1:1,5:1,2:1,3
(Präf.	0,12	0,14	—	—	1:1,2:—:—)
„ 10	0,25	0,38	0,29	0,28	1:1,5:1,2:1,1
(Präf.	0,12	0,13	0,13	—	1:1,1:1,1:—)
„ 11 (3 Std.) .	0,30	0,48	0,35	0,42	1:1,6:1,2:1,4
(Präf.	0,12	0,17	—	—	1:1,4:—:—)
„ 18 ($3^1/_2$ Std.)	0,18	0,28	0,23	0,20	1:1,6:1,3:1,1
(Präf.	0,12	0,14	—	—	1:1,2:—:—)
„ 19 ($1^1/_2$ Std.)	0,24	0,38	0,31	0,32	1:1,6:1,3:1,3
(Präf.	0,10	0,12	—	—	1:1,2:—:—)
Mittel	0,28	0,43	0,33	0,35	1:1,5:1,2:1,2
(Präf.	0,12	0,15	0,13	—	1:1,3:1,1:—)

Übereinstimmend ergibt sich aus dem Obigen, daß, während die Relationen zwischen Gesamtblut und Kammerwasser auf der Höhe der Adrenalinvergiftung nur weniger oder gar nicht von den präformierten bzw. normalen abweichen, hier eine größere Differenz zwischen Gesamtblut und Plasma sich durchgehend geltend macht, und zwar zugunsten des letzteren.

Es findet offenbar eine Verschiebung in der Verteilung der reduzierenden Substanzen des Blutes zwischen Formelementen und Plasma statt. Wenn also unter normalen Verhältnissen auch die Formbestandteile des Blutes reduzierende Substanz in verhältnismäßig reichlicher Menge aufnehmen können, so beweisen diese Untersuchungen, in Übereinstimmung mit denen von

[1]) Eine graphische Darstellung der durchschnittlichen Prozentzahlen ist bei dieser Tabelle ohne Reduktion nicht möglich, denn ganz abgesehen von den verschiedenen Gewichten sind die Tiere mit verschieden großen Adrenalindosen injiziert und zu verschiedenen Zeiten untersucht. Eine

Lyttkens und Sandgren[1]), daß bei der Steigerung der Menge von reduzierenden Substanzen im Blut während einer Adrenalinvergiftung der Überschuß hauptsächlich vom Plasma aufgenommen wird.

Was den Humor aqueus anbetrifft, so lehren die Untersuchungen, daß, während der Zuckergehalt des primären und der des sekundären Kammerwassers normalerweise nicht nur untereinander, sondern auch mit dem des Plasmas etwa gleich sind, die erstgenannten bei der Adrenalinhyperglykämie hinter dem des Plasmas deutlich zurückbleiben.

Dies darf nicht, allerdings nicht ausschließlich, auf die Langsamkeit des Austausches bzw. der Konzentrationsveränderung des Kammerwassers zurückgeführt werden. Wir finden es wenigstens (wenn auch bisweilen in etwas geringerem Maße) ebenfalls bei dem nach vorsichtiger Punktion der Vorderkammer wohl direkt aus der momentan stark zuckerhaltigen Blutflüssigkeit neugebildeten Kammerwasser wieder.

Die Entscheidung, inwieweit wir es hier schlechthin mit Diffusionsphänomenen zu tun haben und inwieweit mit einer

---

versuchsweise (unter jedem Vorbehalt) ausgeführte Reduktion nach den oben (S. 15 u. 22, Anm.) angegebenen Prinzipien zu einem Kaninchen von 2000 g Gewicht und 0,5 mg Adrenalin ergab graphisch (Bezeichnungen wie Fig. 2) folgendes:

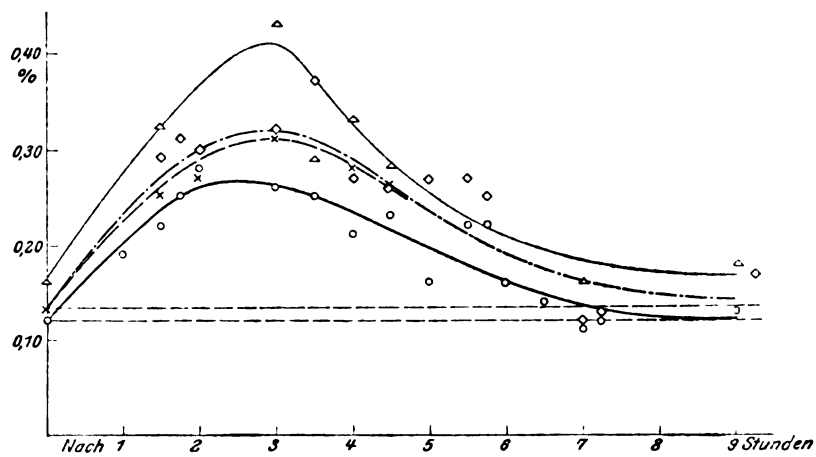


Fig. 4.

[1]) l. c.

vitalen Erscheinung eines elektiven Absonderungsprozesses, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Von großem Interesse ist aber schon die Feststellung, daß während sich die physiologischen Schwankungen des Blutzuckers (wie sie besonders nach kohlenhydratreichen Mahlzeiten auftreten) ziemlich genau im Humor aqueus abspiegeln können, die bisweilen beträchtlichen Schwankungen bei dem pathologischen Zustande des Adrenalindiabetes dem Augeninnern bis zu einem gewissen Grade regelmäßig ferngehalten werden.

Zur Erklärung der Veränderungen des Zuckergehaltes des primären Humor aqueus bei experimenteller Hyperglykämie könnte unter rein osmotischen Vorgängen folgendes in Betracht kommen.

Beim Coma diabeticum tritt bekanntlich (mit der starken Steigerung des Blutzuckers?) eine hochgradige Hypotonie des Bulbus auf; laut Hertel[1]) läßt sich dieselbe ebenfalls experimentell hervorrufen, und zwar durch Einführen, direkt oder per os, stärker konzentrierter Zucker- (oder Salz-) Lösungen ins Blut. Über die Größe der Zuckerdosen wird in der Hertelschen Veröffentlichung nichts Näheres erwähnt.

Wasserabgabe muß natürlich an und für sich die relative Zuckermenge des Humor aqueus vermehren. Es war deshalb zu prüfen, inwieweit sich Augendruck und Kammerwassermenge im Laufe der für die vorliegenden Untersuchungen verwendeten experimentellen Hyperglykämie ändern.

Zu diesem Zwecke wurde an 7 Kaninchen (vgl. unten, Tabelle V) die präformierte Tension mit Schiötz' Tonometer aufgenommen und der Blutzucker bestimmt; das Kammerwasser des einen Auges wurde aspiriert, in ein gewogenes Löschpapierstückchen aufgesaugt und mit der Torsionswage gewogen. Danach bekamen die Tiere 10 g Traubenzucker, und die Tension bzw. die Kammerwassermenge des anderen Auges wurde im Laufe der Hyperglykämie gemessen.

Bei solchen Druckmessungen kann selbstverständlich das für klinische Zwecke konstruierte Tonometer lange nicht dieselbe Präzision beanspruchen, wie z. B. das Registrierungsmanometer von Wessely. Betreffs der vorliegenden, vergleichenden Versuche mag es indessen hinlängliche Genauigkeit besitzen — werden doch die Augen bei den Hertelschen Versuchen „breiweich". Ein Blick auf Tabelle V überzeugt uns, daß eine Flüssigkeitsabnahme

---

[1]) Über Veränderungen des Augendruckes durch osmotische Vorgänge. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., N. F., 16.

Eben kommt mir eine kurze Mitteilung von Römer zu Gesicht (Sitzungsber. d. 85. Versamml. Deutsch. Naturf. u. Ärzte, Wien, 22. Sept. 1913; Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., N. F., 16), nach welcher die Hypotonie mittels des Serums auf gesunde Tiere übertragen werden kann.

Tabelle V.
Alimentäre Hyperglykämie.

Kaninchen		Präform.				Nach 1 Std.				Nach 2 Std.				Nach 3 Std.				Nach 4 Std.				Nach 5 Std.			
Nr. d. Versuchs (vgl. Anal. Belege)	Gewicht mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg
4	2500	0,12	0,15	17,5	204?	0,26	0,28	17,3	264	0,23	—	—	—	0,13	—	—	—	0,12	—	—	—	0,11	—	—	—
7	1700	0,12	0,15	21,5	221	0,17	0,23	20,0	220	0,23	—	—	—	0,21	—	—	—	0,19	—	—	—	0,14	—	—	—
5	2400	0,12	0,14	20,5	248	0,21	—	21,5	—	0,20	0,24	24,5	238	0,18	—	—	—	0,16	—	—	—	0,13	—	—	—
8	1700	0,14	0,17	19,3	223	0,20	—	17,8	—	0,20	0,23	17,8	216	0,19	—	—	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—
6	2550	0,13	0,13	16,3	?	0,24	—	17,0	—	0,27	—	17,5	—	0,19	0,19	17,0	245	0,13	—	—	—	0,12	—	—	—
9	1575	0,14	0,16	20,0	197	0,19	—	19,3	—	0,22	—	20,0	—	0,17	—	19,3	—	0,16	0,19	20,8	212	0,12	—	—	—
10	1750	0,11	0,13	20,0	204	0,20	—	—	—	0,20	—	20,0	—	0,16	—	—	—	0,14	—	19,3	—	0,13	0,14	19,3	214
Summa		0,88	1,03	135,1	—	1,47	0,51	112,9	—	1,55	0,47	99,8	—	1,23	0,19	36,3	—	1,03	0,19	40,1	—	0,75	0,14	19,3	—
Mittel		0,13	0,15	19,3	—	0,21	0,26	18,8	—	0,22	0,24	20,0	—	0,18	0,19	18,2	—	0,15	0,19	20,1	—	0,13	0,14	19,3	—

Tabelle VI.
Adrenalinhyperglykämie.

Kaninchen		Präform.				Nach 1 Std.				Nach 2 Std.				Nach 3 Std.				Nach 4 Std.				Nach 5 Std.				Nach 6 Std.
Nr. d. Versuchs (vgl. Anal. Belege)	Gewicht mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerproz. des Blutes	Zuckerproz. des Kammerw.	Tension des Auges mm Hg	Totalmenge d. Kammerw. mg	Zuckerprozent des Blutes
12	1800	0,12	0,15	21,5	208?	0,30	0,29	21,5	222	0,30	—	—	—	0,27	—	—	—	0,18	—	—	—	0,14	—	—	—	0,11
13	1800	0,12	0,13	20,0	194	0,25	—	20,8	—	0,28	0,31	21,5	201	0,25	—	—	—	0,21	—	—	—	0,17	—	—	—	0,13
14	1825	0,11	0,14	20,0	235	0,27	—	25,5	—	0,24	0,25	21,5	245	0,23	—	—	—	0,14	—	—	—	0,12	—	—	—	0,13
15	1900	0,14	0,15	20,8	227	0,30	—	22,5	—	0,35	—	21,5	—	0,32	0,37	22,5	226	0,24	—	—	—	0,18	—	—	—	0,12
16	2400	0,12	0,13	22,5	215	0,22	—	20,5	—	0,33	—	17,0	—	0,30	—	22,5	—	0,27	0,36	24,5	213	0,27	—	—	—	0,17
17	1800	0,10	0,12	22,5	234	0,23	—	17,8	—	0,21	—	21,5	—	0,23	—	20,5	—	0,18	—	21,5	—	0,13	0,18	22,5	220	0,13
Summa		0,71	0,82	127,3	—	1,57	0,29	128,6	—	1,71	0,56	103,0	—	1,60	0,37	65,5	—	1,22	0,36	46,0	—	1,01	0,18	22,5	—	0,79
Mittel		0,12	0,14	21,2	—	0,26	0,29	21,4	—	0,29	0,28	20,6	—	0,27	0,37	21,9	—	0,20	0,36	23,0	—	0,17	0,18	22,5	—	0,13

innerhalb des Auges im Laufe der gemachten Versuche weder durch die Veränderungen des Augendruckes noch durch die Messungen der Menge des Humor aqueus angegeben ist.

In entsprechender Weise wurden weiter 6 Adrenalinkaninchen untersucht (vgl. nebenstehende Tabelle VI).

Wir wissen ja, daß Adrenalin an und für sich außer der bekannten mydriatischen Wirkung auch den Druck des Auges beeinflußt. Wessely[1]), der sich mit dieser Frage eingehend beschäftigt hat, zeigte, daß Adrenalin bei lokaler Applikation hauptsächlich tensionserniedrigend wirkt, bei intravenöser Injektion dagegen, nicht nur den Blutdruck, sondern meistens auch den Augendruck steigert[2]). Wenn in gewissen Versuchen der Tabelle VI eine Tendenz zur Druckvermehrung zu spüren ist, so ist sie jedenfalls eine sehr unbeträchtliche.

---

[1]) Experimentelle Untersuchungen über den Augendruck, sowie über qualitative und quantitative Beeinflussung des intraokularen Flüssigkeitswechsels. Arch. f. Augenheilk. 60. — Zur Wirkung des Adrenalins auf Pupille und Augendruck. Zeitschr. f. Augenheilk. 13 u. a.

[2]) Nach W. durch Konkurrenz der allgemeinen blutdrucksteigernden Wirkung und der Kontraktion der glatten Orbitalmuskulatur (?) als druckerhöhende Faktoren mit der lokalen Vasokonstriktion als druckerniedrigenden Faktor.

Mit Rücksicht auf die tensionserhöhende Wirkung des Adrenalins bei intravenöser Injektion sei folgende, vom Thema gewissermaßen abweichende Anmerkung gestattet:

Wir haben oben die Hyperglykämie durch psychische Erregung als Adrenalinhyperglykämie aufgefaßt. Wenn aber das in den Blutkreislauf plötzlich eingedrungene Nebennierensekret diese Affektion erklären kann, so liegt es nahe, die tensionserhöhende Wirkung des Adrenalins für eine andere Folge heftiger psychischer Erregung verantwortlich zu machen, und zwar für den akuten Glaukomfall (im disponierten Auge) durch Gemütsbewegungen. Es soll in diesem Zusammenhange an die Kontroverse über das Vorkommen abnormer Adrenalinmengen im Blute Glaukomkranker (Löhlein, Blutuntersuchungen bei Glaukomkranken. v. Gräfes Arch. f. Ophthalmol. 83 und Sitzungsber. d. Ophthal. Gesellsch., Heidelberg 1912. — Wicherkiewicz, Gilbert u. a. Ibid. — Voigt und Jaffé, Einige Untersuchungen über den angeblich vermehrten Adrenalingehalt des Blutes bei Primärglaukom. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. N. F. 14. — Kleczkowski, Das Vorhandensein von Adrenalin im Blutserum der Glaukomkranken. Ibid. 12) erinnert werden.

Zunächst wurde ich darauf durch folgende klinische Beobachtung aufmerksam: An einer 58 jährigen Frau mit „Glaucoma imminens“ auf ihrem einzigen sehenden Auge (T variierend zwischen < 25 und 40, immer < 25 mit Pilokarpin, ab und zu Nebel- und Regenbogensehen, sonst S und PS normal) und Zuckerharnruhr (0,75% bis 1,80% ohne auffallende Polyurie) stellte ich eine Hyperglykämie auf 0,40% fest, und zwar bei der ersten Probe, da die Pat., wie sie später erzählte, eine sehr große Angst vor der Blutentnahme hegte (sie glaubte, es handelte sich um einen echten Aderlaß). Fast gleichzeitig mit der ersten Blutentnahme traten zu meiner unangenehmen Überraschung prodromale Er-

Von Flüssigkeitsabnahme innerhalb des Auges im Laufe der Adrenalinhyperglykämie ist offenbar keine Rede: die aspirierte Kammerwassermenge zeigte im Laufe der Versuche mit der präformierten des anderen Auges eine so genaue Übereinstimmung, wie man es nur überhaupt verlangen kann.

Eine Wasserentziehung durch Osmose erklärt also keineswegs die festgestellte Vermehrung der Zuckerkonzentration des Kammerwassers. Es muß wohl nebst Diffusion des Zuckers die Absonderung einer abnorm zuckerreichen Augenflüssigkeit vorausgesetzt werden, wobei allerdings der Zucker des Plasmas, wie wir es auch als mutmaßlich vorausgesetzt haben (vgl S. 7), bis zu einem gewissen Grade dem Augeninnern ferngehalten werden kann.

Es ist möglich, daß bei Adrenalinvergiftung eine lokale Vasokonstriktion im Auge in der erwähnten Beziehung eine Rolle spielt [1]), und zwar in entsprechender Weise, wie, laut Wessely, der Austritt von Fluorescein und selbst Eiweiß aus den intraokularen Gefäßen in einem gewissen Parallelismus zur Gefäßweite steht. Indessen verhindert ja (wie aus

---

scheinungen eines akuten Glaukoms (Nebelsehen, leichtes Rauchigwerden der Hornhaut, weite Pupille, aber keine Schmerzen) auf und manuell wurde T + 2 (es fand sich im Laboratorium kein Tonometer) festgestellt. Die Pat. bekam Pilokarpin und zeigte schon 5 Stunden danach tonometrisch T = 25.

Es war mir leider nicht möglich, die Pat., die im Ambulatorium behandelt wurde und weit von hier wohnte, systematisch auf den Blutzucker zu untersuchen. Bei zwei späteren Untersuchungen mit denselben diätetischen Verhältnissen (sie hatte etwa 2 Stunden vor der ersten Untersuchung auf nüchternen Magen eine Tasse Kaffee mit 2 Stückchen Zucker und 1 oder 2 Semmeln genossen), aber selbstverständlich mit sorgfältig pilokarpinisiertem Auge, zeigte sie allerdings nie höheren Blutzuckergehalt als 0,19% und keine Änderung des Augendruckes.

Zwar hat diese Pat. schon früher Glaukomprodrome gehabt (Operation war vorgeschlagen, aber bis heute abgelehnt) und die Koinzidenz des Anfalles mit der Blutzuckersteigerung kann ja zufällig gewesen sein. Die Überlegung, daß dies jedoch nicht der Fall war, läßt wieder an die unleugbare, wohltuende Wirkung der Salicylpräparate beim Glaukomanfall denken; nach Starkenstein üben diese auch auf die Adrenalinglucosurie einen hemmenden Einfluß aus: Die pharmakologische Wirkung dieser Substanzen ist bekanntlich u. a., daß sie fast durchweg zur Blutdrucksenkung führen; und zwar ist dies die Folge von Gefäßerweiterung und Blutüberfüllung der Unterleibsorgane bzw. Vasomotorenlähmung des Splanchnicusgebietes, eben jener Fasern, die durch Adrenalin in Erregung versetzt werden. Wir können also wahrscheinlich eine antagonistische Wirkung von Adrenalin und Salicylpräparaten annehmen.

[1]) Bei fortgesetzten Untersuchungen (über die ev. Wirkung gewisser lokal applizierter Arzneimittel auf den Zuckergehalt des Kammerwassers) beabsichtige ich dies u. a. durch Kombination alimentärer Hyperglykämie mit lokaler Applikation von Adrenalin näher eruieren zu versuchen.

chirurgischen Erfahrungen wohlbekannt) das subcutan eingespritzte Adrenalin seine eigene Resorption und die Wirkung bleibt wohl in den meisten Beziehungen rein lokal (die Hyperglykämie ausgenommen). Allerdings wird die mydriatische Wirkung und ebenfalls, wie oben gezeigt, die tensionserhöhende bei der von uns verwendeten Injektionsmethode gar nicht oder wenig hervortretend. Andererseits haben wir von den ev. Fernwirkungen des Adrenalins zunächst auch mit der Blutdruckerhöhung zu rechnen, durch die, wie schon Chabbas zeigte, die Geschwindigkeit der Absonderung des (sekundären) Kammerwassers bis zu einem gewissen Grade vermehrt zu werden scheint.

Für die Auffassung vom Wesen der intraokularen Flüssigkeitsproduktion ist die Feststellung einer elektiven Fähigkeit des Absonderungsapparates (es mag sich jetzt von den Ciliarepithelien, Iris- oder Gefäßendothelien handeln) den abnormen Zuckermengen des Plasmas gegenüber nicht ohne Bedeutung. Denn auch wenn die Absonderung der Augenflüssigkeiten keineswegs mit einer echten Drüsensekretion gleichgestellt werden darf, vielmehr als Transudationsvorgang ganz eigener Art bezeichnet werden muß, so kann man doch sagen, daß sich dieselbe durch solche Eigenschaften dem Wesen einer Drüsensekretion gewissermaßen nähert. Wie es wohl zuerst Heidenhain[1]) und später u. a. Wessely ausgesprochen hat, ist es ja sogar möglich, daß ganz allgemein den Capillarendothelien sekretorische Funktionen bzw. elektive Fähigkeiten in weit höherem Maße zukommen, als früher angenommen worden ist, nur sind sie andernorts schwerer nachzuweisen als am Auge. Allerdings sprechen indessen, wie besonders Schmidt[1]) hervorhob, mehrere Umstände (in erster Linie bedeutend wechselnder Eiweißgehalt der abgesonderten Flüssigkeit) zugunsten der Annahme, daß die Beschaffenheit der Gefäßendothelien in verschiedenen Gefäßgebieten ziemlich verschieden ist.

Es wäre zwar von sehr großem Interesse, könnten wir aus den vorliegenden Untersuchungen einige allgemeine Schlüsse in bezug auf die Lymphebildung ziehen. Indessen ist im Auge zu behalten, daß sich zwischen Humor aqueus und der Lymphe gewisse, sehr bedeutende Verschiedenheiten vorfinden. So enthält der erstere im Gegensatz zur Lymphe normalerweise nie Leukocyten oder rote Blutkörperchen. Weiter ist ja der Eiweißgehalt des Kammerwassers nur ganz minimal ($^1/_{40}$ bis $^1/_{50}$ %). Eingegebenes Fluorescein geht bekanntlich normalerweise nur in sehr geringem Maße in die Vorderkammer über (erst bei iritischen Zuständen in vermehrter Menge), während nach Wessely die Färbung der Lymphe die des Kammerwassers um das Fünfzigfache übertreffen kann.

Rein chemisch genommen nähert sich ja allerdings das sekundäre Kammerwasser mehr der Lymphe. Es wird deshalb und mit Rücksicht auf die in bezug auf den Zucker übereinstimmenden Verhältnisse des sekundären Kammerwassers mit dem primären von Interesse sein, daran zu erinnern, daß Heidenhain nicht nur für die Lymphagoga

[1]) Zit. nach Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie. 7. Aufl. Wiesbaden 1910.

erster Ordnung eine sekretorische Tätigkeit der Capillarendothelien angenommen hat, sondern daß auch für gewisse Stoffe der Lymphagoga zweiter Ordnung, wie eben den Zucker, die Endothelzellen wirksam seien. Für diese Auffassung könnte vielleicht (unter allem Vorbehalt) aus den vorliegenden Untersuchungen des sekundären Kammerwassers eine gewisse Stütze geliefert werden.

Zusammenfassung.

Bei experimenteller Hyperglykämie wird die Steigerung des Blutzuckergehaltes unmittelbar von einer Steigerung des Zuckergehaltes des Kammerwassers begleitet; diese erreicht ihr Maximum binnen 1 Stunde nach dem Blutzucker und dauert etwas länger als die Hyperglykämie. Die Steigerung kann proportionsweise etwa dieselbe sein wie die des Zuckergehaltes des Gesamtblutes; in anderen Fällen ist sie etwas höher, bisweilen vielleicht geringer; letzteres scheint vorzugsweise stattzufinden, wenn die Steigerung des Blutzuckers verhältnismäßig hochgradig ist und vice versa. Es kommt hierfür, nebst Diffusionserscheinungen und Stromgeschwindigkeit der intraokularen Flüssigkeit, noch das in verschiedenen Fällen variierende Vermögen der Blutkörperchen, Zucker aufzunehmen, in Betracht.

Das sekundäre Kammerwasser zeigt auch während der Hyperglykämie etwa denselben Zuckergehalt wie das primäre. Bei wiederholten Punktionen steigt er etwas schneller, erreicht sein Maximum gleichzeitig mit dem Blutzucker und sinkt wohl auch etwas steiler als der des primären Kammerwassers.

Bei den physiologischen Schwankungen des Blutzuckers, die durch die Nahrungsaufnahme bedingt sind, bzw. bei alimentärer Hyperglykämie, erreicht der Zuckergehalt des (primären und sekundären) Kammerwassers manchmal (wenn auch nicht immer) etwa dieselbe Höhe wie der des Plasmas. Bei den (beträchtlicheren) Schwankungen, die bei pathologischen Zuständen, nach Adrenalinvergiftung, im Blute auftreten, bleibt der Zuckergehalt des (primären und sekundären) Kammerwassers hinter dem des Plasmas deutlich zurück; und zwar werden die abnormen Zuckermengen nicht nur durch die Langsamkeit des Austausches, sondern wahrscheinlich auch durch eine besondere Fähigkeit des Absonderungsorganes des Kammerwassers, dem Augeninnern bis zu einem gewissen Grade ferngehalten.

Über den Zucker im Humor aqueus beim Menschen.

Von

Fritz Ask.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut zu Lund.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1913.)

Mit 5 Figuren im Text.

Zuckergehalt des Humor aqueus bei normalen Blutzuckerwerten.

Auch beim Menschen läßt sich, bei operativer Eröffnung der Vorderkammer, die Zuckerkonzentration des Kammerwassers durch die Mikromethode von Bang ohne Schwierigkeit bestimmen. Die Löschpapierstückchen werden durch Einlegen in abs. Alkohol und Äther sterilisiert, der Bindehautsack unmittelbar vor dem Eingriff sorgfältig ausgetupft, das herausgelassene Kammerwasser aufgesaugt und unmittelbar gewogen[1]).

Zwar ist es dabei leicht, Fälle zur Untersuchung zu bekommen, wo der Blutzuckergehalt normal ist — aber die Vorderkammer eines vollkommen normalen Auges wird ja nie operativ eröffnet.

Folgende Fälle seien hier vorläufig kurz besprochen. Es muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, die Ergebnisse zu prüfen und zu vervollständigen. Sämtliche Patienten kamen mit nüchternem Magen um 8 bis 9 Uhr morgens zur Operation.

59jähr. Pat. Cataracta immatura o. a. S = Fingerzählen 2 bis 3 m. Urin eiweiß- und zuckerfrei. Kombinierte Extraktion rechts.

Das nach dem Schnitte abfließende Kammerwasser wurde zu einer Menge von 97 mg aus dem Bindehautsack in das Löschpapierstückchen aufgesaugt: Zuckermenge der Probe 0,11 %; Blutzucker laut zwei unmittelbar vor dem Desinfizieren der Pat. genommenen Proben 0,09 % und 0,10 %, Plasmazucker laut zwei übereinstimmenden Proben 0,12 %.

49jähr. Pat. Leucoma corneae adhaerens o. s. nach perforierendem Hornhautgeschwür vor $1^1/_2$ Jahren. S = ∞; PS normal. Tn. Urin eiweiß- und zuckerfrei. Optische Iridektomie.

---

[1]) Was allerdings bei Operationen geschulte Assistenz erfordert, um genügend schnell (vgl. Anm. S. 9) ausgeführt zu werden. Ich bin in dieser Beziehung dem Herrn Dr. A. Forsheim zu Dank verpflichtet.

Das nach dem Lanzenschnitte abfließende Kammerwasser in einer Menge von 106 mg aus dem Bindehautsack aufgesaugt: Zuckermenge der Probe 0,12%, Zucker des Blutes und des Plasmas laut je zwei, 1/4 Std. vor der Operation genommenen Proben 0,09% und 0,13% (0,12%).

39jähr. Vollbauer. Ulcus corneae serpens o. d. (Pneumokokken). Urin eiweiß- und zuckerfrei. Parazentese mit dem Kauterium wegen Progredienz, Drucksteigerung und großen Hypopyons.

Zuckergehalt einer aus dem Bindehautsack unmittelbar nach der Parazentese entnommenen Kammerwasserprobe (105 mg) 0,13%; Blutzucker und Plasmazucker, etwa 1/4 Std. vor der Operation, in resp. zwei Proben durchschnittlich 0,10% und 0,13%.

Nach dieser Untersuchung stimmt also der Zuckergehalt des Kammerwassers bei entzündlichen Zuständen der Iris bei Hypopyonkeratitis mit dem des Plasmas vollständig überein. Es soll daran erinnert werden, daß in der Regel bei solchen Affektionen keine Infektion des Kammerwassers vorliegt (denn eine Bakterienwucherung könnte vielleicht den Zucker schnell zerstören und die Exsudatbildung den Ersatz erschweren).

68jähr. Vollbauer. L. A. vor 2 1/2 Jahren wegen Glaucoma chronicum mit gutem Erfolge nach Holth sklerektomiert, schon im voraus starke Einschränkung des Gesichtsfeldes, aber gute zentrale S.; r. A. damals o. B. 1 Jahr später r. A. T = 30, S (mit + 2sf.) und PS normal, Pilokarpin. Später verabsäumt, sich nach meinen Anweisungen zu erneuten Untersuchungen einzustellen. Jetzt r. A. S + 2 sf. = 5/6; starke Gesichtsfeldeinschränkung; T = 55; glaukomatöse Exkavation. Urin eiweiß- und zuckerfrei. Trepanation nach Elliot.

Bei dem Abtrennen des Irisprolapses wurde das Kammerwasser zu einer Menge von 99 mg direkt in das Löschpapierstückchen aufgefangen; eine ebenso große Menge herausgelassenes Kammerwasser wurde aus dem Bindehautsack in ein zweites Löschpapierstückchen aufgesaugt. Beide Proben ergaben resp. 0,11% und 0,10% Zucker gegen resp. 0,12% und 0,125% für zwei Blutproben, bzw. 0,15% und 0,16% für zwei Plasmaproben, die 1/4 Std. vor der Operation entnommen waren.

Es ist möglich, daß durch Angst vor der Operation eine psychische Steigerung des Blutzuckers hervorgerufen worden ist, die bei der Eröffnung der Vorderkammer noch nicht den Humor aqueus erreicht hätte, liegen doch die Prozentzahlen des Blutzuckers auf der höchsten Grenze des Normalen. Vielleicht ist es aber auch nicht ausgeschlossen, daß der besonders im Vergleich mit dem Zuckerprozent des Plasmas niedrige Zuckergehalt des Kammerwassers durch eine Verlangsamung des Flüssigkeitsaustausches bzw. der Zuckerdiffusion des glaukomatösen Auges erklärt werden könnte, mit Zehrung des Zuckers ohne genügenden Ersatz desselben.

Die Richtigkeit dieser Auffassung[1]) scheint wenigstens durch die folgenden Fälle eine gewisse Stütze zu erhalten.

---

[1]) Die vielleicht durch experimentelles Glaukom an Kaninchen näher zu eruieren wäre.

63jähr. Pat., vor 15 bzw. 5 Jahren wegen akuten Glaukoms iridektomiert, vorläufig mit gutem Erfolge. Auf dem erstoperierten Auge hat sich aber im Laufe der letzten Jahre ein chronisches Glaukom entwickelt. S = Fingerzählen 1 bis 2 m. Hochgradiger Gesichtsfelddefekt; glaukomatöse Exkavation; T = 60; in letzter Zeit glaukomatöse Schmerzen; ab und zu gelindere Irritationserscheinungen. Urin eiweiß- und zuckerfrei. Trepanation nach Elliot.

Aus dem Bindehautsack wurden zwei Kammerwasserproben (92 und 68 mg) entnommen, die resp. 0,08% und 0,09% Zucker ergaben; Blutzucker $^1/_4$ Stunde vor der Operation laut drei Proben durchschnittlich 0,08%, Plasma in zwei Proben 0,13%.

49jähr. Frau, wiederholte Anfälle (rheumatischer?) Iritis seit 10 Jahren. Jetzt r. A. Pupillarmembran, „Napfkuchenform" der Iris, T = 55, S $\gtrless$ $^5/_{60}$, PS defekt nasal. Urin eiweiß- und zuckerfrei. Iridektomie.

Nach dem Lanzenschnitt Aufsaugen des herausgelassenen Kammerwassers aus dem Bindehautsack in ein Löschpapierstückchen, Menge 102 mg. Die Analyse ergab nur 0,05% Zucker gegen 0,08% und 0,09% für resp. Vollblut und Plasma. Wie sorgfältig auch immer das Austupfen des Bindehautsackes gemacht wurde, läßt sich allerdings die Möglichkeit eines gewissen Verdünnens durch Tränenflüssigkeit (die bekanntlich nur ganz minimale Mengen reduzierender Substanz enthält) nicht in Abrede stellen; aber ein stärkeres Verdünnen konnte in diesem Falle durch approximative Schätzung der Kammerwassermenge sicher ausgeschlossen werden.

Es soll bemerkt werden, daß es sich in diesem Falle von einer hochgradig atrophischen, wohl gleichzeitig sklerosierten Iris handelte.

Zuckergehalt des Humor aqueus bei diabetischer Hyperglykämie.

Eine quantitative Zuckeranalyse des abgelassenen Kammerwassers bei diabetischer Hyperglykämie möchte ein besonderes Interesse beanspruchen können. Denn erstens ist in der augenärztlichen Praxis die operative Eröffnung des Auges bei diabetischen Krankheiten an und für sich kein sehr gewöhnliches Vorkommnis[1]); und wenn weiter auch die Entzuckerung vor der Operation von den meisten modernen Ophthalmologen als

[1]) So erwähnt Ahlström (Oftalmologiska meddelanden, Göteborg 1905) unter 48000 Patienten mit 68903 Augenkrankheiten nur 5 Fälle von Cataracta diabetica (Försterscher Typus), von denen er drei operierte. König fand unter 500 Diabetespatienten 10mal Linsentrübung, Becker unter 1100 Kataraktextraktionen bei nur 11 Personen Zucker im Urin (Hess, l. c), Kitamura (Beitrag zur Kataraktoperation bei Diabetikern, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., N. F., 5). Cataracta diabetica (= Katarakt + Glucosurie) in 5,5% (= 112 Fälle) der primären Starformen an der Breslauer Klinik.

gar nicht notwendig betrachtet wird, so sucht man wohl jedoch gern den Pat. von der abnormen Zuckermenge zu befreien, und zwar, nach den heutigen Anforderungen, nicht nur in bezug auf den Harn, sondern auch in bezug auf das Blut[1]).

Eben als ich die vorliegenden Untersuchungen begonnen hatte, war ich indessen in der Lage, bei Hyperglykämie eine operative Eröffnung der Vorderkammer zu machen.

Der Fall betraf einen 38jährigen Schneider (weiland Soldat), dessen Zuckerkrankheit vor 2 Jahren entdeckt worden war. Seit 3 Monaten beiderseits abnehmende S; typische, „atlasartige" Rindenkatarakte mit Schwellung der Linse; S = Fingerzählen 4 m. Pat. hatte bei dem ersten Besuch seit längerer Zeit keine Diät geführt, war aber kürzlich mit Bicarbonat behandelt worden. Urin: Höchstes spez. Gew. 1,025, Zucker bei der ersten Probe etwa 4%, zurzeit keine (oder nur andeutungsweise) Acidose. Menge am ersten Tage 10 l. Blutzucker 0,62%. Allgemeinzustand verhältnismäßig befriedigend trotz einer komplizierenden tuberkulösen Lungenaffektion. Wegen dieser meinte der Arzt, der den Pat. zu mir remittierte, dürfte man mit der Kohlenhydratentziehung nicht zu streng sein. Mit Rücksicht speziell auf die Uhthoffsche Operationsstatistik[2]) (nach der die Forderung einer vollständigen Entzuckerung des Pat. vor der Operation nicht aufrechterhalten zu werden braucht) erklärte ich mich hiermit in diesem Falle einverstanden.

Um die Starreife auf dem einen Auge zu beschleunigen und Malträtieren der Iris bei der späteren Extraktion des Stars möglichst zu vermeiden[3]), führte ich in diesem wie in 2 von 3 früher glücklich operierten Fällen der Cataracta diabetica (Försterscher Typus) die präparatorische Iridektomie auf dem einen Auge mit bestem Erfolge aus.

Während der Vorbehandlung zur Operation hatte die Harnmenge bis zur Hälfte, der Zuckergehalt des Harns bis auf 2%, des Blutes bis auf 0,18% abgenommen. Diese Zahlen wurden am Morgen etwa 1 Stunde vor der Operation erhalten. Eine neue Blutzuckerprobe, die unmittelbar

---

[1]) Wenn auch in vielen Fällen der Blutzucker mit dem Verschwinden des Harnzuckers rasch auf die Norm sinkt, so gibt es andere, bei denen die Hyperglykämie zurückbleibt, in denen es aber doch auch noch bisweilen gelingt, bei fortgesetzter Kohlenhydratentziehung den normalen Blutzuckerwert zu erzielen (vgl. Bang, l. c.).

[2]) Zit. nach Hayashi, Experimentelle Untersuchungen über die Infektionsfähigkeit des Auges bei Diabetes und die baktericide Wirkung des diabetischen Blutserums auf Eitererreger. v. Gräfes Arch. f. Ophthalmologie 76, u. A.

[3]) Kommt doch Iritis 4mal häufiger bei der Operation von Cataracta diabetica als bei der gewöhnlichen Staroperation vor (Kitamura, l. c.)!

vor der Operation genommen wurde, ergab indessen 0,24% [psychische Erregung[1])?].

Der Bindehautsack wurde nach der Cocainisierung sorgfältig ausgetupft und das bei dem Lanzenschnitt abgelassene Kammerwasser in einer Menge von 66 und 94 mg in zwei Löschpapierstückchen aufgesaugt. Die Analyse ergab für die beiden Proben 0,240% und 0,234% Zucker. Leider wurde das Plasma in diesem Falle nicht untersucht.

Der Zuckergehalt des Humor aqueus am Menschen zeigt also bei diabetischer Hyperglykämie, nach dieser Untersuchung, deutliche Übereinstimmung mit dem, was wir bei der experimentellen Hyperglykämie festgestellt haben.

Zusammenfassung.

Ein Fall von Katarakt und ein Fall von Leucoma corneae adhaerens zeigten bei operativer Eröffnung der Vorderkammer in bezug auf den Zuckergehalt des Kammerwassers ziemlich genaue Übereinstimmung mit dem, was wir bei Tieren experimentell als normal festgestellt haben. Dasselbe war auch in einem Falle von Hypopyonkeratitis der Fall.

Dagegen scheint bei gewissen anderen pathologischen Zuständen des Auges, mit Stromverlangsamung bzw. Stagnation des Kammerwassers (Glaucoma, Seclusio pupillae), eine Verminderung der reduzierenden Substanz des Humor aqueus (durch Sklerosierung der Gewebe und mangelhaften Ersatz des verzehrten Zuckers?) nicht ausgeschlossen.

In einem Falle schweren Diabetes mit Zuckerstar und Hyperglykämie (große Oscillationen des Blutzuckers) zeigte sich bei operativer Eröffnung der Vorderkammer der Zuckergehalt des Kammerwassers übereinstimmend mit dem des Gesamtblutes (0,24%).

Erwägungen über gewisse diabetische Augenkomplikationen mit besonderer Rücksicht auf die Beziehungen zur Hyperglykämie.

Es lag ja nahe, anzunehmen, daß gewisse den Diabetes mellitus komplizierende Augenaffektionen mit einer vermehrten Zuckerkonzentration der Augenflüssigkeiten kausal verkettet sind. Ohne auf Details

[1]) Vgl. hiermit die von Bang mitgeteilte Beobachtung Ahlströms, „daß die Zuckerausscheidung bei Kataraktoperationen in die Höhe geht, um nachher wieder zu sinken". Leider wurde in meinem Falle keine Einzelprobe des Urins unmittelbar nach der Operation genommen; bei der täglichen Zuckerausscheidung (100 g) war keine wesentliche Veränderung nach der Operation festzustellen.

einzugehen[1]), soll bemerkt werden, daß man sich wohl noch bis heute kaum einig darüber ist, ob die nächste Ursache des Zuckerstars im Untergang des Kapselepithels durch Toxinwirkung [Deutschmann[2])], etwa in entsprechender Weise wie bei der Naphthalinkatarakt [Heß[3])], zu suchen ist, oder in Wasserentziehung der Linse, ev. durch Zunahme des Zuckergehaltes der umgebenden Flüssigkeit [Heubel[4])].

Abgesehen, daß es sich wohl bei Cataracta diabetica von keiner Wasserentziehung, vielmehr von Schwellung der Linse handelt, ist zu bemerken, daß sich die Linse in vitro und experimentell am lebenden Tiere erst bei Verwendung stärker konzentrierter Zuckerlösungen trübt und außerdem (da die Trübung allein durch osmotische Konzentrationsdifferenzen bedingt ist) in anatomisch nicht ganz entsprechender Weise wie beim Zuckerstar (Deutschmann). Andererseits können vielleicht kleinere Zuckermengen bei lange dauernden Einwirkungen einen ähnlich schädigenden Einfluß haben, wie kurze Wirkungen großer Dosen (Heubel).

Auch höchstgradige Zuckerharnruhr braucht ja indessen keine Katarakt hervorzurufen, während derselbe in anderen Fällen auftreten kann, wo der Zuckergehalt des Urins verhältnismäßig niedrig ist. Dasselbe gilt für diabetische Refraktionsveränderungen, auch für die Hyperopie. Lundsgaard[5]) hat nämlich festgestellt, daß sich die transitorische Hyperopie beim Diabetes zu den Variationen des Zuckergehaltes des Harns in keine direkte Beziehung bringen läßt. Deutschmann fand in einem Falle von infantilem Diabetes mit 8% Zucker im Harn unmittelbar nach dem Tode 0,50% bzw. 0,37% Zucker im Kammer-

[1]) Vgl. hierüber näher u. a. die Übersichten von: Leber, Die Zirkulations- und Ernährungsverhältnisse usw., l. c. — Groenow, Beziehungen der Allgemeinleiden zu Veränderungen des Sehorgans. Gräfe-Sämischs Handb. d. ges. Augenheilk., 2. Aufl., Leipzig 1904. — Heß, l. c. und Wessely, Der Flüssigkeits- und Stoffwechsel des Auges usw., l. c.

[2]) Zur Wirkung wasserentziehender Stoffe auf die Krystallinse. Arch. f. d. ges. Physiol. **20**. — Entsteht die diabetische Katarakt beim Menschen infolge von Wasserentziehung der Linse seitens zuckerhaltiger Augenflüssigkeit? Ibid. **22**. — Pathologisch-anatomische Untersuchung einiger Augen von Diabetikern nebst Bemerkungen über die Pathogenese der diabetischen Katarakt. v. Gräfes Arch. f. Ophthalmologie **33**. — Befund bei diabetischer Katarakt. Münch. med. Wochenschr. 1898.

[3]) l. c.

[4]) Über die Wirkung wasserentziehender Stoffe, insbesondere auf die Krystallinse. Arch. f. d. ges. Physiol. **20**. — Bemerkungen zu Deutschmanns Aufsatz: Zur Wirkung usw. (vgl. oben). Ibid. **21**. — Über die Wirkung wasserentziehender Stoffe, insbesondere auf die Linse. Ibid. **40**.

[5]) Transitorische Hypermetropie beim Diabetes mellitus. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., N. F., **10**. Vgl. auch u. a. Gallus, Beiträge zur Kenntnis der Refraktionsabnahme bei Diabetes mellitus. Arch. f. Augenheilk. **69**. — Wölfflin, Über temporäre Refraktionsabnahme bei Diabetes mellitus. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk., N. F., **12**.

wasser und Glaskörper; und Leber[1]) im Kammerwasser bei einer diabetischen Katarakt mit „mäßigem Zuckergehalte des Harns" $2^1/_2$ Stunde post mortem nur 0,06% (Titrieren mit Fehlingscher Lösung).

Abgesehen von unzuverlässiger Untersuchungsmethodik braucht aber das Angeführte nur zu beweisen, daß zwischen Zuckergehalt des Urins und dem der Augenflüssigkeit keine konstante Relation besteht. Dabei ist auf analoge Verhältnisse in bezug auf den Blutzucker hinzuweisen. Denn es gibt ja Fälle hochgradiger Zuckerharnruhr mit relativ unerheblicher Hyperglykämie und vice versa. Das erstgenannte ist eben beim infantilen Diabetes (vgl. oben) der Fall, wo die Nieren weniger leicht zuckerdicht zu werden scheinen (Leire). Andererseits fanden Liefmann und Stern in einem Falle (Koma) 1,01% Blutzucker und nur Spuren von Harnzucker. Sie führen andere Fälle an, wo die Nieren offenbar schon im Beginne der Krankheit zuckerdicht waren, und behaupten, daß dies immer im Laufe des Diabetes früher oder später der Fall wird, was eine Steigerung des Blutzuckers mit sich bringt. Und wenn auch „Glucosurie ohne wesentliche Hyperglykämie im Beginne der diabetischen Krankheit die Regel ist" (v. Noorden), so scheint doch aus von Bang mitgeteilten Versuchen hervorzugehen, daß sogar ohne Glucosurie tiefgreifende Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels vorkommen können.

Ebensowenig wie betreffs Harnzucker und Blutzucker darf ein Vergleich in vereinzelten Fällen zwischen Zuckergehalt des Harns und dem der Augenflüssigkeit Allgemeingültigkeit beanspruchen. Wenn aber auch Variationen innerhalb gewisser Grenzen vorkommen können, herrscht dagegen, wie wir oben gesehen haben, eine deutliche Gesetzmäßigkeit zwischen Blut und Humor aqueus in bezug auf die Zuckermenge. Es erübrigt noch, bei diabetischen Augenaffektionen den Blutzucker systematisch zu untersuchen, namentlich weil nach unserer jetzigen Auffassung nicht mehr die Glucosurie, sondern der Blutzucker den Kernpunkt der Diabeteslehre bildet.

Nach unseren oben hervorgelegten Untersuchungen ist es nicht unwahrscheinlich, daß am gesunden Auge eine gewisse „Elektivität" im Sinne des Fernhaltens stärkerer Steigerungen der Zuckerkonzentration vom Augeninnern vorliegt. Es ist ja möglich, daß diese Eigenschaft am Auge des Diabetikers abgeschwächt wird, und zwar unter Einfluß derselben ungünstigen Umstände (cytotoxische Substanzen?), die zu den bekannten organischen Veränderungen des Pigmentepithels, zu den Gefäßveränderungen des Innenauges, Retinitis diabetica usw. führen. Somit könnte vielleicht die Zuckerkonzentration der Augenflüssigkeiten noch einstweilen vermehrt und direkt oder indirekt Schädigungen der Linse (chemische, osmotische und andere Veränderungen) leichter hervorgerufen werden.

Es läßt sich denken, daß noch andere osmotische Vorgänge, und zwar eine intermittierende Wasserentziehung des Sehorgans bei sehr starker Steigerung des Blutzuckers für die Entstehung der Linsenaffektionen

[1]) Die Zirkulations- und Ernährungsverhältnisse usw. l. c.

nicht ohne Bedeutung wären, indem vielleicht solche Veränderungen, auch geringeren Grades, bei lange dauernden, bzw. oft wiederholten, Einwirkungen schädigende Einflüsse auf die Linse ausüben könnten.

Die Richtigkeit dieser Annahmen vorausgesetzt, müssen die diabetischen Linsenveränderungen leichter hinzukommen, wenn große Oscillationen des Blutzuckergehaltes vorkommen, wie sie eben in meinem oben berichteten Falle von Cataracta diabetica festgestellt wurden; wir wissen ja, daß große Oscillationen des Blutzuckers beim Diabetes immer ein Zeichen eingreifender Anomalien sind (Bang). Es ist deshalb bei Augenkomplikationen (Linsenkomplikationen) ganz besonders auf solche große Oscillationen des Blutzuckers acht zu geben.

Tensionsveränderungen des Auges, auch Schwankungen innerhalb der physiologischen Grenzen, sind wohl dabei genau zu registrieren; unsere experimentellen Untersuchungen versprechen aber hierfür nur wenig, was übrigens auch gewisse klinische Beobachtungen schon bestätigt haben[1]).

Bekanntlich verwenden die Bakteriologen, um das Bakterienwachstum zu begünstigen, Nährböden, die bis zu 0,5% Zucker enthalten; die Frage aber von der infektionsbefördernden Wirkung verdünnter Zuckerlösungen im lebenden Gewebe ist wohl noch kaum endgültig beantwortet. Zwar scheint, nach Tierversuchen von Hayashi[2]), eine Ansiedelung eitererregender Staphylokokken gewissermaßen befördert zu werden durch intravenöse Zuckerinjektionen, Amylnitrit- und Adrenalindiabetes an Kaninchen, Pankreasexstirpation an Hunden und die baktericiden Kräfte des Serums abgeschwächt zu werden. Diese Untersuchungen warten wohl noch ihrer Bestätigung und Vervollständigung u. a. durch Versuche mit Pneumokokken, Streptokokken usw. Um die schlechtere Wundheilung und Neigung zu Infektionen bei diabetischen Patienten zu erklären, sind allerdings nebst Zucker noch andere gewebsschädigende Faktoren (Aceton, Acetessigsäure, Milchsäure, Oxybuttersäure, Oxalsäure usw.) in Betracht zu ziehen (Hayashi).

Die Bekämpfung der Hyperglykämie, als Ausdruck eines abnormen Stoffwechsels, darf aber m. E. durch solche Einwände in der ophthalmologischen, auch der ophthalmochirurgischen, Praxis keineswegs vernachlässigt werden. Jedenfalls ergibt sich aus dem oben (S. 41) Angeführten, daß es sich erübrigt, das Studium der Frage von Bedeutung oder Nichtbedeutung der Zuckerausscheidung für augenärztliche Operationen bei Diabetes mit entsprechenden klinischen Beobachtungen in bezug auf die Hyperglykämie zu vervollständigen.

---

[1]) Laut Olav Hansen (Diabetes mellitus patogenese og behandling. Verhndl. d. VIII. Nord. Kongr. f. inn. Med., Lund, Aug. 1913) kommt der Hypotonie bei Coma diabeticum nur diagnostische, aber keine prognostische Bedeutung zu.

[2]) l. c.

Analytische Belege der tierexperimentellen Untersuchungen.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von $^n/_{100}$-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Normalversuche.							
Versuch 1	3^{50} nachm.	Blut	126	0,36	0,150	0,12	
(14. VII. 13).	3^{50} „	„	100	0,30	0,120	0,12	
Weißes Kaninchen, Gewicht 1990 g.	4^{15} „	Kammerw.	155	0,50	0,215	0,14	r. A.
	4^{45} „	„	122	0,36	0,150	0,12	l. A.
	4^{50} „	Blut	102	0,30	0,120	0,12	
Versuch 2	5^{50} nachm.	Blut	110	0,35	0,145	0,13	
(15. X. 13).	6^{00} „	Kammerw.	57	0,24	0,090	0,16	
Meerschweinchen.	6^{15} „	Blut	119	0,38	0,160	0,13	
Versuch 3	6^{20} nachm.	Blut	110	0,28	0,110	0,10	
(15. X. 13).	6^{30} „	Kammerw.	52	0,20	0,060	0,12	
Albinot. Meerschweinchen.	6^{35} „	Blut	100	0,27	0,105	0,11	
Versuch 4	6^{45} nachm.	Blut	75	0,26	0,100	0,13	
(15. X. 13).	6^{55} „	Kammerw.	40	0,18	0,050	0,15	
Meerschweinchen.	7^{00} „	Blut	110	0,35	0,145	0,13	
Versuch 5	1^{30} nachm.	Blut	100	0,32	0,130	0,13	
(15. X. 13).	1^{40} „	Kammerw.	99	0,36	0,150	0,15	r. A. I. Punktion.
Junge Katze.	1^{45} „	„	60	0,24	0,090	0,15	l. A. I. „
	1^{50} „	Blut	110	0,33	0,135	0,12	
	1^{55} „	Kammerw.	90	0,33	0,135	0,15	l. A. II. „
Versuch 6	6^{50} vorm.	Blut	112	0,24	0,090	0,08	
(14. XI. 13).	6^{50} „	„	120	0,25	0,095	0,08	
Schwein, Gewicht 100 kg.	7^{00} „	Kammerw.	108	0,25	0,095	0,09	Nach dem Schlachten.
	7^{00} „	„	107	0,25	0,095	0,09	
Versuch 7	7^{30} vorm.	Blut	100	0,20	0,060	0,06	
(14. XI. 13).	7^{30} „	„	109	0,23	0,085	0,08	
Süßmilchkalb, Gew. 80 kg.	7^{40} „	Kammerw.	97	0,22	0,080	0,08	r. A. Nach dem Schlachten.
	7^{40} „	„	100	0,22	0,080	0,08	l. A.
Versuch 8	8^{00} vorm.	Blut	117	0,38	0,160	0,14	} Tier stark erregt!
(14. XI. 13).	8^{00} „	„	176	0,60	0,260	0,15	} Psych. Hyperglykämie?
Ochse.	8^{10} „	Kammerw.	123	0,31	0,120	0,10	Nach dem Schlachten.
	8^{10} „	„	97	0,26	0,100	0,10	
Versuch 9	8^{20} vorm.	Blut	91	0,18	0,050	0,05	
(14. XI. 13).	8^{20} „	„	92	0,18	0,050	0,05	
Rind.	8^{30} „	Kammerw.	106	0,20	0,060	0,06	Nach dem Schlachten.
	8^{30} „	„	107	0,20	0,060	0,06	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 10 (14. XI. 13). Schaf.	8^{40} vorm.	Blut	102	0,22	0,080	0,08	
	8^{40} „	„	126	0,27	0,105	0,08	
	8^{50} „	Kammerw.	102	0,22	0,080	0,08	Nach dem Schlachten.
	8^{50} „	„	95	0,24	0,090	0,09	
Versuche an Karenztieren.							
Versuch 1 (15.u.16.X.13). Weißes Kaninchen, vorherbestimmt. Gewicht 2125 g.	15. X.						
	5^{00} nachm.	Blut	102	0,32	0,130	0,13	75 Std. Hunger.
	5^{20} „	Kammerw.	102	0,42	0,175	0,17	r. A.
	5^{20} „	„	77	0,32	0,130	0,17	r. A.
	5^{25} „	Blut	122	0,58	0,250	0,20	Hyperglykämie durch psychische Erregung?
	16. X.						
	6^{00} nachm.	„	96	0,27	0,105	0,11	100 Std. Hunger. Gewicht 1675 g.
	6^{15} „	Kammerw.	88	0,27	0,105	0,12	l. A.
	6^{15} „	„	123	0,36	0,150	0,12	l. A.
	6^{20} „	Blut	99	0,28	0,110	0,11	
Versuch 2 (16. X. 13). BlauesKaninchen, vorherbestimmt. Gewicht 2200 g.	8^{15} vorm.	Blut	102	0,28	0,110	0,11	36 Std. Hunger.
	8^{30} „	Kammerw.	110	0,35	0,145	0,13	r. A.
	4^{00} nachm.	Blut	106	0,30	0,120	0,11	44 Std. Hunger. Gewicht 2000 g.
	4^{15} „	Kammerw.	136	0,40	0,170	0,13	l. A.
Versuche bei alimentärer Hyperglykämie.							
Versuch 1 (12. VIII. 13). Graues Kaninchen, Gewicht 2925 g; zeigte bei einem vor 8 Tagen gemachten Vorversuch mit 10 g Traubenzucker per os Steigerung des Blutzuckergehaltes v. 0,12% bis zu 29% im Laufe von 1½ Stunden und allmähliches Sinken zum Normalen im Laufe von 5 Stunden.	4^{30} nachm.	Blut	161	0,45	0,190	0,12	
	5^{00} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	6^{00} „	Blut	124	0,62	0,270	0,22	
	6^{28} „	„	106	0,52	0,225	0,21	
	6^{45} „	Kammerw.	144	0,70	0,305	0,21	r. A.
	6^{45} „	„	94	0,50	0,215	0,23	r. A.
	6^{48} „	Blut	128	0,54	0,230	0,18	
	7^{20} „	„	142	0,63	0,275	0,19	
	7^{55} „	„	133	0,61	0,265	0,20	
	8^{25} „	„	120	0,52	0,225	0,19	
	8^{50} „	„	110	0,42	0,175	0,16	
	9^{00} „	Kammerw.	105	0,52	0,225	0,21	l. A.
	9^{00} „	„	61	0,33	0,135	0,22	l. A.
	9^{42} „	Blut	137	0,49	0,210	0,15	Während des Versuchs kein Urin gelassen.
Versuch 2 (13. VIII. 13). Weißes Kaninchen, Gewicht 2100 g. 48 Std. Hunger.	4^{50} nachm.	Blut	130	0,42	0,175	0,13	
	5^{00} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	5^{10} „	Blut	103	0,48	0,205	0,20	
	5^{30} „	„	104	0,56	0,240	0,23	
	5^{45} „	„	104	0,65	0,280	0,27	
	6^{00} „	Kammerw.	109	0,68	0,295	0,27	r. A.
	6^{05} „	Blut	105	0,74	0,325	0,31	
	6^{30} „	„	108	0,78	0,340	0,31	Urin, Almén negativ.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100 Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 2 (Fortsetzung).	7^{00} nachm.	Blut	136	0,85	0,375	0,28	
	7^{30} „	„	98	0,46	0,195	0,20	
	8^{00} „	„	116	0,43	0,180	0,16	
	8^{30} „	„	118	0,42	0,175	0,15	
	9^{00} „	„	105	0,39	0,165	0,16	
	9^{05} „	Kammerw.	142	0,59	0,255	0,18	l. A.
	9^{10} „	Blut	112	0,42	0,175	0,16	
	9^{50} „	„	134	0,50	0,215	0,16	
Versuch 3 (14. VIII. 13). Braunes Kaninchen, Gewicht 2500 g. 48 Std. Hunger.	4^{30} nachm.	Blut	102	0,28	0,110	0,11	
	4^{45} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde
	5^{45} „	Blut	106	0,68	0,295	0,28	
	6^{15} „	„	110	0,72	0,315	0,29	
	6^{45} „	„	104	0,60	0,260	0,25	
	7^{45} „	„	114	0,51	0,220	0,19	Urin, Almén negativ.
	7^{50} „	Kammerw.	120	0,70	0,305	0,25	r. A.
	8^{45} „	Blut	103	0,40	0,170	0,17	
	9^{45} „	„	118	0,34	0,140	0,12	
	10^{15} „	„	102	0,30	0,120	0,12	
	10^{18} „	Kammerw.	130	0,40	0,170	0,13	l. A.
	11^{00} „	Blut	102	0,28	0,110	0,11	
Versuch 4 (2. XI. 13). Blaues Kaninchen, Gewicht 2500 g.	12^{15} nachm.	Blut	138	0,38	0,160	0,12	Bei diesem und den folgenden Versuchen mit alimentärer Hyperglykämie wird, wenn nicht anders bemerkt, die Totalmenge des durch vollständige Aspiration gewonnenen Kammerwassers angegeben.
	12^{15} „	„	116	0,33	0,135	0,12	
	12^{35} „	Kammerw.	204[1])	0,69	0,300	0,15	r. A. T o. s. {5,5:5,0 (18 mm Hg). 7,5:7,5 (17 mm Hg).
	12^{40} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	1^{40} „	Blut	110	0,66	0,285	0,26	
	1^{43} „	Kammerw.	264	1,66	0,740	0,28	l. A. T o. s. {5,5:5 (18,0 mm Hg). 7,5:8 (16,5 mm Hg).
	2^{40} „	Blut	114	0,60	0,260	0,23	
	3^{45} „	„	126	0,39	0,165	0,13	
	4^{40} „	„	117	0,35	0,145	0,12	
	5^{40} „	„	118	0,33	0,135	0,11	Urin, Almén negativ.
Versuch 5 (2. XI. 13). Blaues Kaninchen, Gewicht 2400 g.	12^{50} nachm.	Blut	110	0,32	0,130	0,12	
	12^{50} „	„	117	0,32	0,130	0,11	
	1^{00} „	Kammerw.	248	0,79	0,345	0,14	r. A. T o. s. {5,5:4,0 (21 mm Hg). 7,5:6,5 (20 mm Hg).
	1^{05} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	2^{05} „	Blut	111	0,55	0,235	0,21	T o. s. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:6 (22 mm Hg).
	3^{00} „	„	113	0,54	0,230	0,20	
	3^{05} „	Kammerw.	238	1,30	0,580	0,24	l. A. T o. s. {5,5:3,0 (25 mm Hg). 7,5:5,5 (24 mm Hg).
	3^{55} „	Blut	110	0,46	0,195	0,18	
	4^{55} „	„	105	0,40	0,170	0,16	
	6^{00} „	„	110	0,34	0,140	0,13	

[1]) Ein kleiner Teil verloren gegangen?

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 6 (3. XI. 13). Blaues Kaninchen, Gewicht 2550 g. 24 Std. Hunger.	1^{50} nachm.	Blut	109	0,34	0,140	0,13	
	1^{55} „	„	115	0,39	0,165	0,14	Psychische Erregung?
	2^{00} „	Kammerw.	168[1])	0,52	0,225	0,13	r. A. T o. s. {5,5:5,5 (16,5 mm Hg). 7,5:8,0 (16,0 mm Hg).
	2^{05} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	2^{55} „	Blut	100	0,55	0,235	0,24	T o. s. {5,5:5 (18 mm Hg). 7,5:8 (16 mm Hg).
	4^{00} „	„	115	0,70	0,305	0,27	T o. s. {5,5:5,0 (18 mm Hg). 7,5:7,5 (17 mm Hg).
	5^{00} „	„	105	0,46	0,195	0,19	
	5^{05} „	Kammerw.	245	1,07	0,475	0,19	l. A. T o. s. {5,5:5 (18 mm Hg). 7,5:8 (16 mm Hg).
	6^{05} „	Blut	117	0,36	0,150	0,13	
	7^{05} „	„	115	0,34	0,140	0,12	
Versuch 7 (4. XI. 13). Graublaues Kaninchen, Gew. 1700 g.	1^{15} nachm.	Blut	157	0,40	0,170	0,11	
	1^{15} „	„	123	0,35	0,145	0,12	
	1^{25} „	Kammerw.	221	0,76	0,330	0,15	l. A T o. s. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:6 (22 mm Hg).
	1^{30} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	2^{30} „	Blut	126	0,49	0,210	0,17	
	2^{35} „	Kammerw.	220	1,12	0,500	0,23	r. A. T o. d. {5,5:5,5 (19,5 mm Hg). 7,5:6,5 (20,5 mm Hg).
	3^{30} „	Blut	101	0,54	0,230	0,23	
	4^{30} „	„	122	0,60	0,260	0,21	
	5^{30} „	„	116	0,52	0,225	0,19	
	6^{30} „	„	114	0,37	0,155	0,14	
	7^{30} „	„	111	0,35	0,145	0,13	
Versuch 8 (4. XI. 13). Graublaues Kaninchen, Gew. 1700 g.	1^{38} nachm.	Blut	116	0,38	0,160	0,14	
	1^{38} „	„	114	0,37	0,155	0,14	
	1^{45} „	Kammerw.	223	0,84	0,370	0,17	l. A. T o. s. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:7,0 (19,0 mm Hg).
	1^{50} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	2^{55} „	Blut	119	0,55	0,235	0,20	T o. d. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:8,0 (16,0 mm Hg).
	3^{50} „	„	114	0,53	0,225	0,20	
	3^{55} „	Kammerw.	216	1,10	0,490	0,23	r. A. T o. d. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:8,0 (16,0 mm Hg).
	4^{50} „	Blut	131	0,58	0,250	0,19	
	5^{50} „	„	104	0,33	0,135	0,13	
Versuch 9 (4. XI. 13). Graublaues Kaninchen, Gew. 1575 g.	12^{55} nachm.	Blut	126	0,40	0,170	0,14	
	1^{05} „	Kammerw.	197	0,74	0,325	0,16	l. A. T o. s. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:7 (19 mm Hg).
	1^{10} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	2^{10} „	Blut	136	0,60	0,260	0,19	T o. d. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:7,0 (19,0 mm Hg).
	3^{10} „	„	119	0,60	0,260	0,22	T o. d. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:7 (19 mm Hg).
	4^{10} „	„	86	0,35	0,145	0,17	T o. d. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:7,0 (19,0 mm Hg).
	5^{10} „	„	102	0,38	0,160	0,16	
	5^{15} „	Kammerw.	212	0,93	0,410	0,19	r. A. T o. d. {5,5:4,0 (21,0 mm Hg). 7,5:6,5 (20,5 mm Hg).
	6^{10} „	Blut	105	0,32	0,130	0,12	

[1]) Nicht die Totalmenge, ein Teil der Probe verloren gegangen.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe: Art	Probe: Menge mg	Verbrauch von n/100-Jodlösung ccm	Zuckermenge der Probe: absol. mg	Zuckermenge der Probe: %	Anmerkungen
Versuch 10 (7. XI. 13). Graublaues Kaninchen, Gew. 1750 g.	12^{15} nachm.	Blut	100	0,28	0,110	0,11	
	12^{25} „	Kammerw.	204	0,60	0,260	0,13	r. A. T o. a. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:7 (19 mm Hg).
	12^{30} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	1^{30} „	Blut	104	0,48	0,205	0,20	
	2^{30} „	„	110	0,52	0,225	0,20	T o. a. {5,5:4 (21 mm Hg). 7,5:7 (19 mm Hg).
	3^{30} „	„	103	0,38	0,160	0,16	
	4^{30} „	„	107	0,36	0,150	0,14	T o. a. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:7,0 (19,0 mm Hg).
	5^{30} „	„	116	0,37	0,155	0,13	
	5^{35} „	Kammerw.	214	0,70	0,305	0,14	T o. a. {5,5:4,5 (19,5 mm Hg). 7,5:7,0 (19,0 mm Hg).

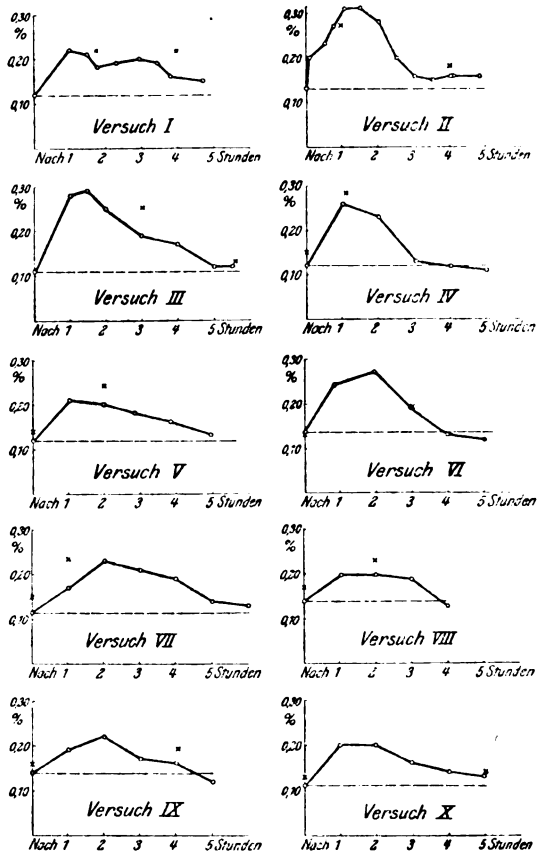


Fig. 5. Graphische Darstellung der gefundenen Zuckerprozentzahlen bei den Versuchen 1 bis 10 mit alimentärer Hyperglykämie. Die Bezeichnungen sind bei dieser und den folgenden graphischen Tabellen dieselben wie an den Fig. 1 bis 4.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 11 (27. XI. 13). Graues Kaninchen. Gewicht 1975 g.	5^{10} nachm.	Blut	102	0,30	0,120	0,12	
	5^{10} „	„	132	0,36	0,150	0,11	
	5^{10} „	Plasma	125	0,42	0,175	0,14	
	5^{10} „	„	114	0,37	0,155	0,14	
	5^{20} „	Kammerw.	117	0,40	0,170	0,15	l. A. I. Punktion.
	5^{20} „	„	105	0,34	0,140	0,13	
	5^{35} „	„	108	0,36	0,150	0,14	l. A. II. „
	5^{40} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	6^{40} „	Blut	120	0,64	0,275	0,23	
	6^{40} „	„	119	0,64	0,275	0,23	
	6^{40} „	Plasma	98	0,58	0,250	0,26	
	6^{40} „	„	102	0,56	0,240	0,24	
	6^{46} „	Kammerw.	104	0,56	0,240	0,23	r. A. I. Punktion.
	6^{46} „	„	132	0,74	0,325	0,24	
	7^{00} „	„	106	0,54	0,235	0,22	r. A. II. „
	7^{40} „	Blut	110	0,47	0,200	0,18	
	8^{40} „	„	112	0,39	0,165	0,15	
	9^{40} „	„	105	0,34	0,140	0,13	
	9^{40} „	„	110	0,35	0,145	0,13	
	9^{40} „	Plasma	103	0,36	0,150	0,14	
	9^{40} „	„	114	0,40	0,170	0,15	
	9^{45} „	Kammerw.	103	0,37	0,155	0,15	r. A. III. „
Versuch 12 (29. XI. 13). Graues Kaninchen. Gewicht 2000 g.	3^{45} nachm.	Blut	110	0,30	0,120	0,11	
	3^{45} „	„	113	0,30	0,120	0,11	
	3^{45} „	Plasma	127	0,40	0,170	0,13	
	3^{45} „	„	135	0,42	0,175	0,13	
	3^{50} „	Kammerw.	115	0,33	0,135	0,12	r. A. I. Punktion.
	3^{50} „	„	102	0,32	0,130	0,13	
	4^{05} „	„	86	0,28	0,110	0,13	r. A. II. „
	4^{10} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	5^{45} „	Blut	115	0,62	0,270	0,23	
	5^{45} „	„	120	0,63	0,275	0,23	
	5^{45} „	Plasma	118	0,62	0,270	0,23	
	5^{45} „	„	121	0,70	0,305	0,25	
	5^{50} „	Kammerw.	124	0,62	0,270	0,22	l. A. I. Punktion.
	5^{50} „	„	88	0,40	0,170	0,20	
	6^{05} „	„	97	0,56	0,240	0,25	l. A. II. „
	9^{00} „	Blut	102	0,30	0,120	0,12	
Versuch 13 (29. XI. 13). Graues Kaninchen. Gewicht 1950 g.	4^{15} nachm.	Blut	93	0,24	0,090	0,10	
	4^{15} „	„	104	0,24	0,090	0,09	
	4^{15} „	Plasma	122	0,37	0,155	0,13	
	4^{15} „	„	119	0,38	0,160	0,13	
	4^{20} „	Kammerw.	123	0,36	0,150	0,12	r. A. I. Punktion.
	4^{20} „	„	132	0,38	0,160	0,12	
	4^{32} „	„	106	0,38	0,160	0,15	r. A. II. Punktion. Hyperglykämie nach oder durch die Blutentnahme?
	4^{35} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	6^{10} „	Blut	102	0,48	0,205	0,20	
	6^{10} „	Plasma	110	0,64	0,280	0,25	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 13 (Fortsetzung).	6^{10} nachm.	Plasma	123	0,68	0,295	0,24	
	6^{15} „	Kammerw.	117	0,55	0,235	0,20	l. A. I. Punktion.
	6^{15} „	„	99	0,50	0,215	0,22	
	6^{25} „	„	97	0,47	0,200	0,21	l. A. II. „
	6^{35} „	Blut	101	0,47	0,200	0,20	
	7^{35} „	„	99	0,30	0,120	0,12	
Versuch 14 (30. XI. 13). Blaues Kaninchen, Gewicht 2100 g. 24 St. Hunger	11^{45} vorm.	Blut	102	0,28	0,110	0,11	
	11^{45} „	„	106	0,29	0,115	0,11	
	11^{45} „	Plasma	112	0,34	0,140	0,13	
	11^{45} „	„	120	0,38	0,160	0,13	
	11^{55} „	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	1^{00} nachm.	Blut	110	0,52	0,225	0,20	
	1^{00} „	„	121	0,56	0,240	0,20	
	1^{00} „	Plasma	105	0,70	0,305	0,29	
	1^{00} „	„	117	0,75	0,325	0,28	
	1^{10} „	Kammerw.	130	0,71	0,310	0,24	r. A. I. Punktion.
	1^{10} „	„	96	0,54	0,230	0,24	
	1^{20} „	„	120	0,70	0,305	0,25	r. A. II. „
	1^{20} „	„	77	0,46	0,195	0,25	
	2^{00} „	Blut	102	0,41	0,170	0,17	
	2^{00} „	„	117	0,46	0,195	0,17	
	2^{00} „	Plasma	97	0,54	0,230	0,24	
	2^{00} „	„	148	0,76	0,330	0,22	
	2^{05} „	Kammerw.	108	0,55	0,235	0,22	l. A. I. „
	2^{05} „	„	145	0,75	0,325	0,22	
	2^{15} „	„	105	0,50	0,215	0,20	l. A. II. „
	2^{15} „	„	85	0,36	0,150	0,18	
	3^{00} „	Blut	102	0,28	0,110	0,11	
	4^{00} „	„	108	0,32	0,130	0,12	
Versuch 15 (30. XI. 13). Graues Kaninchen, Gewicht 2000 g.	12^{00} mittags	Blut	99	0,30	0,120	0,12	
	12^{00} „	„	105	0,32	0,130	0,12	
	12^{00} „	Plasma	120	0,39	0,165	0,14	
	12^{00} „	„	103	0,35	0,145	0,14	
	12^{10} nachm.	—	—	—	—	—	10 g Dextrose in 10%iger Lösung per os mit Schlundsonde.
	1^{06} „	Blut	104	0,47	0,200	0,19	
	1^{26} „	„	105	0,44	0,185	0,18	
	1^{26} „	„	114	0,45	0,190	0,17	
	1^{26} „	Plasma	118	0,66	0,285	0,24	
	1^{26} „	„	118	0,69	0,300	0,25	
	1^{35} „	Kammerw.	96	0,47	0,200	0,21	r. A. I. Punktion.
	1^{35} „	„	137	0,70	0,305	0,22	
	1^{45} „	„	107	0,52	0,220	0,21	r. A. II.
	2^{25} „	Blut	113	0,39	0,165	0,15	
	2^{25} „	„	100	0,36	0,150	0,15	
	2^{25} „	Plasma	110	0,44	0,185	0,17	
	2^{25} „	„	107	0,48	0,205	0,19	
	2^{30} „	Kammerw.	99	0,44	0,185	0,19	l. A. I. „
	2^{40} „	„	120	0,44	0,185	0,15	l. A. II. „
	2^{55} „	Blut	102	0,36	0,150	0,15	
	3^{55} „	„	107	0,32	0,130	0,12	

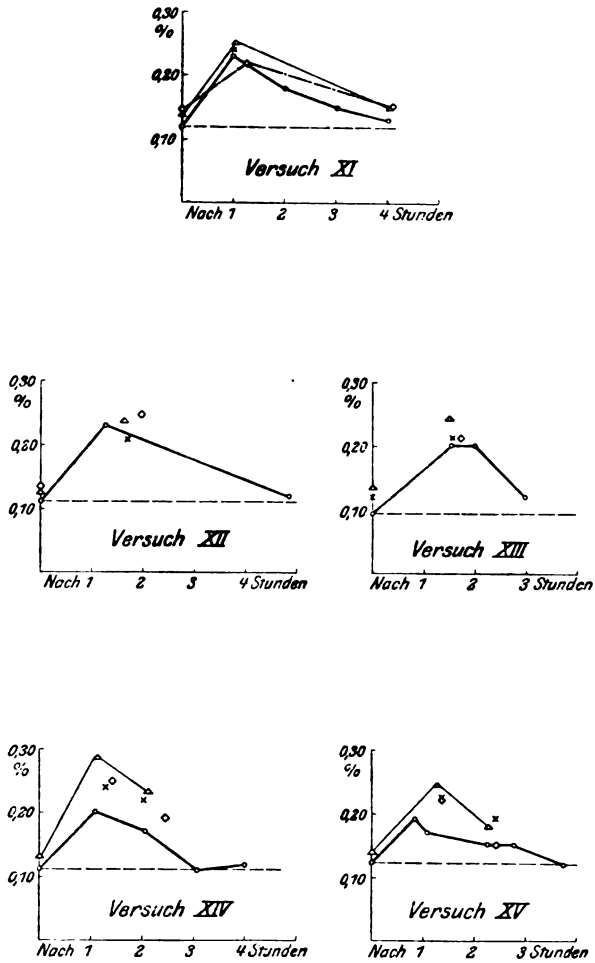


Fig. 6.

Graphische Darstellung der gefundenen Zuckerprozente bei den Versuchen 11 bis 15 mit alimentärer Hyperglykämie.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe: Art	Probe: Menge mg	Verbrauch von n/100-Jodlösung ccm	Zuckermenge der Probe: absol. mg	Zuckermenge der Probe: %	Anmerkungen
Versuche bei Adrenalinhyperglykämie.							
Versuch 1 (19. VII. 13). Weißes Kaninchen, Gewicht 1950 g.	3^{00} nachm.	Blut	110	0,34	0,140	0,13	
	3^{40} „	„	120	0,35	0,145	0,12	
	3^{50} „	Kammerw.	97	0,34	0,140	0,14	r. A.
	7^{05} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	7^{40} „	Blut	120	0,70	0,305	0,25	
	8^{10} „	„	107	0,78	0,340	0,32	
	8^{45} „	„	91	0,77	0,335	0,37	
	9^{15} „	„	113	0,89	0,390	0,35	28 ccm Urin, Almén stark positiv.
	9^{20} „	Kammerw.	104	0,90	0,395	0,38	l. A
	10^{15} „	Blut	121	0,96	0,425	0,35	
	11^{00} „	„	85	0,58	0,250	0,29	
	11^{30} „	„	137	0,64	0,275	0,20	
	12^{00} mittern.	„	90	0,36	0,150	0,17	
Versuch 2 (22. VII. 13). Weißes Kaninchen, Gewicht 2325 g.	5^{25} nachm.	Blut	122	0,37	0,155	0,13	
	5^{30} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	6^{00} „	Blut	117	0,48	0,205	0,18	
	6^{35} „	„	131	0,68	0,295	0,23	
	7^{05} „	„	133	0,80	0,350	0,26	Urin, Almén positiv.
	7^{40} „	Kammerw.	147	0,88	0,385	0,26	r. A.
	7^{45} „	Blut	105	0,72	0,315	0,30	
	8^{30} „	„	135	0,80	0,350	0,26	
	9^{15} „	„	104	0,55	0,235	0,23	
	10^{15} „	„	126	0,38	0,160	0,13	
	10^{20} „	Kammerw.	147	0,60	0,260	0,18	l. A.
	10^{20} „	„	51	0,24	0,090	0,18	
	10^{27} „	Blut	119	0,35	0,145	0,12	
Versuch 3 (29. VII. 13). Schwarzweiß. Kaninchen, Gewicht 2525 g.	2^{00} nachm.	Blut	126	0,34	0,140	0,11	
	2^{05} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	3^{00} „	Blut	161	0,74	0,325	0,20	
	4^{00} „	„	128	0,65	0,280	0,22	
	4^{15} „	„	104	0,61	0,265	0,25	
	4^{30} „	„	118	0,70	0,305	0,26	53 ccm Urin, Almén positiv.
	4^{45} „	„	125	0,73	0,320	0,26	
	5^{15} „	„	132	0,80	0,350	0,27	
	5^{30} „	„	124	0,71	0,310	0,25	
	5^{45} „	„	164	0,87	0,380	0,23	
	6^{00} „	„	139	0,63	0,275	0,20	
	6^{25} „	„	127	0,57	0,245	0,19	
	6^{45} „	„	148	0,57	0,245	0,17	
	6^{50} „	Kammerw.	126	0,67	0,290	0,23	r. A.
	6^{50} „	„	126	0,65	0,280	0,22	
	6^{55} „	Blut	99	0,41	0,175	0,18	
	7^{30} „	„	115	0,40	0,170	0,15	
	7^{45} „	„	107	0,35	0,145	0,14	
	8^{00} „	„	112	0,35	0,145	0,13	
	8^{08} „	Kammerw.	82	0,35	0,145	0,18	l. A.
	8^{08} „	„	85	0,35	0,145	0,17	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 3 (Fortsetzung).	8^{15} nachm.	Blut	120	0,37	0,155	0,13	
	8^{30} „	„	115	0,37	0,155	0,13	
	9^{00} „	„	108	0,31	0,125	0,12	
Versuch 4 (20. VIII. 13). Braunes Kaninchen, Gewicht 2000 g.	2^{40} nachm.	Blut	100	0,26	0,100	0,10	
	3^{00} „	Kammerw.	114	0,34	0,140	0,12	r. A. I. Punktion.
	3^{15} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	3^{45} „	Blut	111	0,58	0,250	0,23	
	4^{10} „	„	121	0,67	0,290	0,24	
	4^{15} „	Kammerw.	137	0,80	0,350	0,26	l. A. I. Punktion.
	4^{23} „	„	131	0,80	0,350	0,27	r. A. II. „
	4^{25} „	Blut	107	0,60	0,260	0,24	
	4^{55} „	„	109	0,62	0,270	0,25	
	5^{15} „	Kammerw.	132	1,02	0,450	0,34	l. A. II. „
	5^{24} „	„	122	0,99	0,435	0,36	r. A. III. „
	5^{25} „	Blut	100	0,60	0,260	0,26	
	5^{35} „	—	—	—	—	—	53 ccm Urin, Almén positiv.
	5^{55} „	Blut	102	0,58	0,250	0,25	
	6^{15} „	„	110	0,62	0,270	0,25	
	6^{25} „	Kammerw.	115	0,93	0,410	0,36	l. A. III. Punktion.
	6^{28} „	„	123	0,93	0,410	0,33	r. A. IV. „
	6^{30} „	Blut	105	0,62	0,270	0,26	
	7^{00} „	„	100	0,58	0,250	0,25	
	7^{20} „	„	100	0,49	0,210	0,21	
	7^{25} „	Kammerw.	100	0,57	0,245	0,25	l. A. IV. „
	7^{30} „	„	76	0,52	0,225	0,30	r. A. V. „
	7^{35} „	Blut	100	0,45	0,190	0,19	
	8^{00} „	„	107	0,45	0,190	0,18	
	8^{25} „	„	100	0,39	0,165	0,17	
	8^{28} „	Kammerw.	100	0,54	0,230	0,23	l. A. V. „
	8^{30} „	„	80	0,41	0,175	0,22	r. A. VI. „
	8^{32} „	Blut	100	0,36	0,150	0,15	
	8^{55} „	„	106	0,35	0,145	0,14	
	9^{20} „	Kammerw.	91	0,34	0,140	0,15	l. A. VI. „
	9^{30} „	Blut	127	0,31	0,125	0,10	
	9^{50} „	Kammerw.	66	0,27	0,105	0,16	r. A. VII. „
	10^{40} „	Blut	95	0,27	0,105	0,11	
	10^{50} „	Kammerw.	80	0,29	0,115	0,14	l. A. VII. „
	11^{15} „	Blut	105	0,30	0,120	0,11	
	11^{20} „	Kammerw.	119	0,42	0,175	0,15	r. A. VIII. „
	11^{30} „	Blut	105	0,34	0,140	0,13	
Versuch 5 (23. VIII. 13). Braunes Kaninchen, Gewicht 2000 g.	4^{00} nachm.	Blut	120	0,39	0,165	0,14	
	4^{00} „	„	121	0,40	0,170	0,14	
	4^{15} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	4^{20} „	Kammerw.	110	0,42	0,175	0,16	r. A. I. Punktion.
	4^{30} „	Blut	120	0,42	0,175	0,15	
	5^{10} „	„	105	0,43	0,180	0,17	
	5^{15} „	—	—	—	—	—	15 ccm Urin, Almén negativ.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 5 (Fortsetzung).	5^{25} nachm.	Kammerw.	128	0,58	0,250	0,20	l. A. I. Punktion.
	5^{25} „	„	78	0,40	0,170	0,22	
	5^{30} „	„	108	0,58	0,250	0,23	r. A. II. „
	5^{35} „	Blut	114	0,45	0,190	0,17	
	6^{00} „	„	114	0,44	0,185	0,16	
	6^{05} „	—	—	—	—	—	20 ccm Urin, Almén negativ.
	6^{30} „	Kammerw.	131	0,70	0,305	0,23	l. A. II. Punktion.
	6^{35} „	„	106	0,60	0,260	0,25	r. A. III. „
	6^{40} „	Blut	102	0,40	0,170	0,17	
	7^{10} „	„	108	0,46	0,195	0,18	
	7^{48} „	Kammerw.	105	0,55	0,235	0,22	l. A. III. „
	7^{52} „	„	136	0,72	0,315	0,23	r. A. IV. „
	7^{55} „	Blut	106	0,44	0,185	0,17	
	7^{58} „	—	—	—	—	—	40 ccm Urin, Almén negativ.
	9^{10} „	Kammerw.	110	0,50	0,215	0,20	r. A. V. Punktion.
	9^{15} „	„	116	0,52	0,225	0,19	l. A. IV. „
	9^{20} „	Blut	102	0,40	0,170	0,17	
	10^{00} „	—	—	—	—	—	28 ccm Urin, Almén negativ.
	10^{40} „	Kammerw.	92	0,35	0,145	0,16	r. A. VI. Punktion.
	10^{55} „	„	101	0,38	0,160	0,16	l. A. V. „
	11^{00} „	Blut	98	0,35	0,145	0,15	
Versuch 6 (26. VIII. 13). **Graues Kaninchen, Gewicht 2200 g.**	2^{00} nachm.	Blut	111	0,28	0,110	0,10	
	2^{00} „	„	105	0,27	0,105	0,10	
	2^{20} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1:5000 in den Rücksack injiziert.
	2^{40} „	Blut	151	0,54	0,230	0,15	
	3^{10} „	„	131	0,52	0,225	0,17	
	3^{30} „	—	—	—	—	—	43 ccm Urin, Almén negativ.
	4^{13} „	Blut	140	0,70	0,305	0,22	
	4^{15} „	Kammerw.	127	0,68	0,295	0,23	l. A. I. Punktion.
	4^{20} „	Blut	120	0,55	0,235	0,20	
	4^{25} „	—	—	—	—	—	40 ccm Urin, Almén positiv.
	5^{30} „	Blut	152	0,65	0,280	0,18	
	5^{35} „	Kammerw.	116	0,73	0,320	0,28	r. A. I. Punktion.
	5^{38} „	„	98	0,57	0,245	0,25	l. A. II. „
	5^{45} „	Blut	115	0,48	0,205	0,18	
	6^{45} „	„	109	0,32	0,130	0,12	
	6^{50} „	Kammerw.	105	0,46	0,195	0,19	l. A. III. „
	6^{53} „	„	142	0,57	0,245	0,17	r. A. II. „
	6^{55} „	Blut	96	0,30	0,120	0,13	
	7^{00} „	—	—	—	—	—	45 ccm Urin, Almén negativ.
	8^{15} „	Kammerw.	67	0,28	0,110	0,16	l. A. IV. Punktion.
	8^{18} „	„	112	0,41	0,175	0,16	r. A. III. „
	8^{20} „	Blut	113	0,31	0,125	0,11	
	8^{40} „	Kammerw.	134	0,50	0,215	0,16	r. A. IV. „
	8^{45} „	„	114	0,42	0,175	0,15	l. A. V. „
	8^{50} „	Blut	78	0,25	0,095	0,12	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 6 (Fortsetzung).	10^{15} nachm.	Blut	94	0,26	0,100	0,11	
	10^{18} „	—	—	—	—	—	23 ccm Urin, Almén negativ.
	10^{20} „	Kammerw.	121	0,38	0,160	0,13	r. A. V. Punktion.
	12^{00} mittern.	„	124	0,42	0,175	0,14	r. A. VI. „
Versuch 7 (30. VIII. 13). Braunes Kaninchen, Gewicht 1850 g.	1^{00} nachm.	Blut	113	0,40	0,170	0,15	Tier stark erregt, psychische Hyperglykämie?
	1^{00} „	„	100	0,37	0,155	0,16	
	1^{30} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1:5000 in den Rücksack injiziert.
	2^{00} „	Blut	117	0,70	0,305	0,26	
	2^{30} „	„	106	0,81	0,355	0,33	
	2^{35} „	—	—	—	—	—	48 ccm Urin, Almén negativ.
	3^{30} „	Blut	103	0,90	0,395	0,38	
	4^{00} „	„	104	0,92	0,405	0,39	
	4^{15} „	—	—	—	—	—	42 ccm Urin, Almén schwach positiv.
	4^{30} „	Blut	105	0,92	0,405	0,39	
	4^{38} „	Kammerw.	125	1,24	0,550	0,44	r. A. I. Punktion.
	4^{42} „	„	143	1,33	0,595	0,42	r. A. II. „
	5^{30} „	Blut	105	0,75	0,325	0,31	
	5^{40} „	Kammerw.	110	0,98	0,430	0,39	r. A. III. „
	5^{42} „	Blut	110	0,84	0,370	0,34	
	6^{00} „	„	105	0,72	0,315	0,30	
	6^{30} „	„	100	0,60	0,260	0,26	
	6^{35} „	Kammerw.	128	1,04	0,460	0,36	r. A. IV. „
	6^{50} „	„	107	0,86	0,375	0,35	r. A. V. „
	6^{55} „	Blut	100	0,54	0,230	0,23	
	6^{57} „	—	—	—	—	—	25 ccm Urin, Almén negativ.
	7^{35} „	Blut	100	0,50	0,215	0,22	
	7^{40} „	Kammerw.	120	0,73	0,320	0,27	r. A. VI. Punktion.
	7^{50} „	„	128	0,76	0,330	0,26	r. A. VII. „
	7^{55} „	Blut	107	0,52	0,225	0,21	
	8^{35} „	„	100	0,43	0,180	0,18	
	8^{40} „	Kammerw.	94	0,58	0,250	0,27	r. A. VIII. „
	8^{55} „	Blut	108	0,38	0,160	0,15	
	10^{30} „	„	103	0,35	0,145	0,14	
	10^{35} „	Kammerw.	92	0,48	0,205	0,22	r. A. IX. „
	11^{15} „	Blut	124	0,48	0,205	0,17	
	11^{45} „	„	110	0,38	0,160	0,15	
	12^{00} mittern.	Kammerw.	112	0,56	0,240	0,21	r. A. X. „
	12^{10} „	„	97	0,54	0,230	0,24	l. A. I. „
Versuch 8 (31. VIII. 13). Braunes Kaninchen, Gewicht 3000 g.	9^{50} vorm.	Blut	115	0,30	0,120	0,10	
	10^{00} „	Kammerw.	100	0,31	0,125	0,13	r. A. I. Punktion.
	10^{09} „	„	150	0,46	0,195	0,13	r. A. II. „
	10^{15} „	—	—	—	—	—	0,75 mg Adrenalin in Lösung 1:5000 in den Rücksack injiziert.
	11^{50} „	—	—	—	—	—	43 ccm Urin, Almén negativ.
	12^{10} nachm.	Blut	100	0,62	0,270	0,27	
	12^{15} „	Kammerw.	105	0,98	0,430	0,41	r. A. III. Punktion. Obs. Kochzeit unsicher!
	12^{25} „	„	125	0,98	0,430	0,34	r. A. IV. Punktion.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von $^n/_{100}$-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 8 (Fortsetzung).	12^{50} nachm.	Blut	100	0,75	0,325	0,33	
	2^{05} „	—	—	—	—	—	70 ccm Urin, Almén schwach positiv.
	2^{20} „	Kammerw.	120	1,06	0,470	0,39	r. A. V. Punktion.
	2^{30} „	„	115	0,80	0,350	0,30	r. A. VI. „
	2^{35} „	Blut	103	0,65	0,280	0,27	
	4^{05} „	„	100	0,52	0,225	0,23	
	4^{15} „	Kammerw.	109	0,52	0,225	0,21	r. A. VII. „
	4^{25} „	„	96	0,38	0,160	0,17	r. A. VIII. „
	4^{30} „	Blut	100	0,40	0,170	0,17	
	6^{00} „	„	100	0,32	0,130	0,13	
	6^{15} „	Kammerw.	132	0,46	0,195	0,15	r. A. IX. „
	6^{30} „	Blut	102	0,32	0,130	0,13	
	7^{40} „	„	108	0,30	0,120	0,11	
	7^{45} „	Kammerw.	110	0,35	0,145	0,13	l. A. I. „
	7^{50} „	„	90	0,27	0,105	0,12	r. A. X. „ mit Hyphäma stark gemischt.
	7^{55} „	„	121	0,42	0,175	0,14	l. A. II. Punktion.
	8^{00} „	Blut	106	0,30	0,120	0,11	
Versuch 9 (6. IX. 13). Weißes Kaninchen, Gewicht 3200 g.	2^{15} nachm.	Blut	112	0,42	0,175	0,16	
	2^{30} „	Plasma	102	0,40	0,170	0,17	
	2^{32} „	„	110	0,45	0,190	0,17	
	2^{32} „	—	—	—	—	—	1 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	3^{00} „	Blut	103	0,78	0,340	0,33	
	3^{30} „	„	114	0,86	0,375	0,33	
	4^{00} „	„	148	1,42	0,635	0,43	
	4^{02} „	Kammerw.	118	0,98	0,430	0,36	} r. A. I. Punktion.
	4^{02} „	„	123	0,99	0,435	0,35	
	4^{14} „	„	90	1,15	0,510	0,57	r. A. II. „
	4^{16} „	Blut	130	1,27	0,565	0,43	
	4^{29} „	Kammerw.	106	1,42	0,635	0,60	r. A. III. „
	4^{30} „	Blut	113	1,48	0,660	0,58	
	4^{55} „	„	120	1,43	0,640	0,53	
	5^{20} „	„	137	1,58	0,705	0,51	
	5^{21} „	Plasma	120	2,27	1,020	0,85	
	5^{21} „	„	129	2,44	1,095	0,85	
	5^{30} „	Kammerw.	139	2,05	0,920	0,66	r. A. IV. „
	5^{35} „	„	110	1,32	0,590	0,54	l. A. I. „
	5^{36} „	Blut	110	1,28	0,570	0,52	
	5^{56} „	Kammerw.	135	2,00	0,895	0,66	r. A. V. „
	5^{59} „	„	118	1,63	0,730	0,62	l. A. II. „
	6^{00} „	Blut	130	1,39	0,620	0,48	
	6^{03} „	—	—	—	—	—	93 ccm Urin, 5,1% Zucker
	6^{30} „	Blut	102	1,12	0,495	0,49	
	7^{05} „	„	148	1,30	0,580	0,39	
	7^{30} „	„	112	1,27	0,565	0,50	Kochzeit unsicher!
	7^{40} „	Kammerw.	138	1,46	0,650	0,47	r. A. VI. Punktion.
	7^{55} „	Blut	136	1,08	0,480	0,35	
	8^{00} „	Kammerw.	146	1,46	0,650	0,45	r. A. VII. „
	8^{08} „	„	126	1,52	0,680	0,54	l. A. III. „

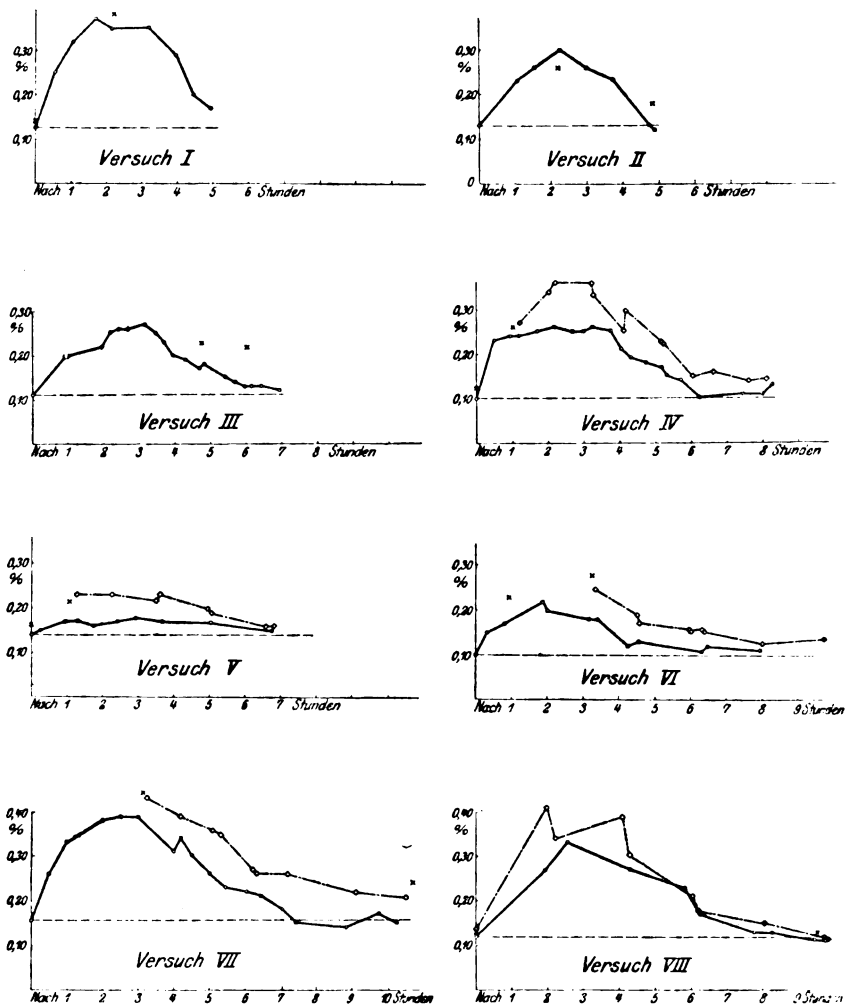


Fig. 7.

Graphische Darstellung der gefundenen Zuckerprozentzahlen bei den Adrenalinversuchen 1 bis 8. Die Kurve der Zuckerprozente des sek. Kammerwassers bisw. nach Mittelberechnung für beide Augen.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 9 (Fortsetzung).	8^{10} nachm.	Blut	110	0,88	0,385	0,35	
	8^{20} „	Kammerw.	124	1,22	0,545	0,44	r. A. VIII. Punktion.
	8^{30} „	Blut	124	0,88	0,385	0,31	
	9^{00} „	„	100	0,80	0,350	0,35	
	9^{30} „	„	104	0,74	0,325	0,31	
	12^{00} mittern.	„	100	0,34	0,140	0,14	
Versuch 10 (7. IX. 13). Weißes Kaninchen, Gewicht 2900 g.	9^{40} vorm.	Blut	120	0,35	0,145	0,12	
	9^{40} „	„	122	0,35	0,145	0,12	
	10^{30} „	„	134	0,36	0,150	0,11	
	10^{31} „	Plasma	126	0,40	0,170	0,13	
	10^{31} „	„	136	0,42	0,175	0,13	
	10^{31} „	„	132	0,42	0,175	0,13	
	10^{35} „	Kammerw.	134	0,41	0,175	0,13	r. A. I. Punktion.
	10^{35} „	„	134	0,42	0,175	0,13	
	10^{45} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1:5000 in den Rücksack injiziert.
	11^{45} „	Blut	131	0,54	0,230	0,18	
	12^{45} nachm.	„	135	0,67	0,290	0,21	
	1^{15} „	„	97	0,50	0,215	0,22	
	1^{45} „	„	106	0,56	0,240	0,23	
	1^{46} „	Plasma	117	1,01	0,445	0,38	
	1^{46} „	„	92	0,82	0,360	0,39	
	1^{52} „	Kammerw.	115	0,70	0,305	0,27	r. A. II. Punktion.
	1^{52} „	„	166	1,05	0,465	0,28	
	2^{05} „	„	105	0,69	0,300	0,29	l. A. I. „
	2^{08} „	Blut	108	0,61	0,265	0,25	
	2^{20} „	Kammerw.	133	0,90	0,395	0,30	r. A. III. „
	2^{25} „	„	166	1,18	0,525	0,32	l. A. II. „
	2^{25} „	„	80	0,59	0,255	0,32	
	3^{15} „	Blut	105	0,49	0,210	0,20	
	4^{45} „	„	106	0,25	0,095	0,09	
	5^{45} „	„	128	0,30	0,120	0,09	
	5^{46} „	Plasma	117	0,44	0,185	0,16	
	5^{46} „	„	114	0,41	0,175	0,15	
	5^{46} „	„	146	0,53	0,225	0,15	
	5^{50} „	Kammerw.	—	—	—	—	r. A. IV. Punktion verloren gegangen!
	5^{53} „	„	81	0,25	0,095	0,12	l. A. III. Punktion.
	6^{00} „	„	157	0,47	0,200	0,13	r. A. V. „
	6^{05} „	„	112	0,36	0,150	0,13	l. A. IV. „
	6^{08} „	Blut	120	0,30	0,120	0,10	Während des ganzen Versuchs kein Urin gelassen.
Versuch 11 (12. X. 13). Schwarzweißes Kaninchen, Gewicht 2150 g.	10^{25} vorm.	Blut	109	0,32	0,130	0,12	
	10^{25} „	„	112	0,32	0,130	0,12	
	10^{28} „	Plasma	120	0,49	0,210	0,18	
	10^{28} „	„	112	0,46	0,195	0,17	
	10^{28} „	„	100	0,40	0,170	0,17	
	10^{30} „	—	—	—	—	—	0,75 mg Adrenalin in Lösung 1:5000 in den Rücksack injiziert.
	12^{00} mittags	Blut	100	0,58	0,250	0,25	
	12^{30} nachm.	Urin	32	0,60	0,260	0,81	60 ccm Urin. Almén positiv.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100 Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 11 (Fortsetzung).	1^{28} nachm.	Kammerw.	94	0,74	0,325	0,35	r. A. I. Punktion.
	1^{28} „	„	104	0,82	0,360	0,35	
	1^{32} „	Blut	112	0,75	0,325	0,29	
	1^{32} „	„	94	0,67	0,290	0,31	
	1^{35} „	Plasma	98	1,04	0,460	0,47	
	1^{35} „	„	110	1,18	0,525	0,48	
	1^{35} „	„	90	1,00	0,440	0,49	
	1^{38} „	Kammerw.	118	1,13	0,500	0,42	r. A. II. „
	2^{48} „	„	78	0,58	0,250	0,32	l. A. I. „
	2^{48} „	„	90	0,66	0,285	0,32	
	2^{50} „	Blut	107	0,60	0,260	0,24	
	2^{50} „	„	100	0,58	0,250	0,25	
	2^{53} „	Plasma	103	0,77	0,335	0,33	
	2^{53} „	„	104	0,80	0,350	0,34	
	2^{53} „	„	120	0,96	0,425	0,35	
	3^{00} „	Kammerw.	98	0,70	0,305	0,31	l. A. II. „
	3^{05} „	„	130	0,98	0,430	0,33	r. A. III. „
	5^{00} „	Urin	19	0,48	0,205	1,08	40 ccm Urin. Almén positiv.
	7^{30} „	Kammerw.	101	0,36	0,150	0,15	r. A. IV. Punktion.
	7^{35} „	„	64	0,26	0,100	0,16	l. A. III. „
	7^{38} „	Blut	118	0,36	0,150	0,13	
	7^{38} „	„	114	0,34	0,140	0,12	
	7^{40} „	Plasma	102	0,50	0,215	0,21	
	7^{40} „	„	102	0,52	0,225	0,22	
	7^{40} „	„	118	0,58	0,250	0,21	
	7^{45} „	Kammerw.	139	0,55	0,235	0,17	r. A. V. „
Versuch 12 (5. XI. 13).							Bei diesem und den folgenden Versuchen 13 bis 17 wird die Totalmenge des durch vollständige Aspiration gewonnenen Kammerwassers angegeben.
Blaugraues Kaninchen, Gewicht 1800 g.	10^{25} vorm.	Blut	133	0,37	0,155	0,12	
	10^{25} „	„	115	0,34	0,140	0,12	
	10^{40} „	Kammerw.	208?	0,73	0,320	0,15	r. A. T o. a. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 6 (22 mm Hg).
	10^{45} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	11^{45} „	Blut	111	0,76	0,330	0,30	
	11^{48} „	Kammerw.	222	1,46	0,650	0,29	l. A. T o. a. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 6 (22 mm Hg).
	12^{45} nachm.	Blut	115	0,80	0,350	0,30	
	1^{45} „	„	122	0,74	0,325	0,27	
	2^{45} „	„	100	0,42	0,175	0,18	
	3^{45} „	„	101	0,34	0,140	0,14	
	4^{45} „	„	103	0,29	0,115	0,11	
Versuch 13 (5. XI. 13).	10^{50} vorm.	Blut	103	0,29	0,115	0,11	
	10^{50} „	„	113	0,33	0,350	0,12	
Blaugraues Kaninchen, Gewicht 1800 g.	10^{58} „	Kammerw.	194	0,60	0,260	0,13	r. A. T o. a. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 7 (19 mm Hg).
	11^{00} „	—	—	—	—	—	0,75 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	12^{00} mittags	Blut	113	0,65	0,280	0,25	T o. a. {5,5 : 4,0 (21,0 mm Hg). 7,5 : 6,5 (20,5 mm Hg).
	12^{50} nachm.	„	111	0,70	0,305	0,28	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe: Art	Probe: Menge mg	Verbrauch von $^n/_{100}$-Jodlösung ccm	Zuckermenge der Probe: absol. mg	Zuckermenge der Probe: %	Anmerkungen
Versuch 13 (Fortsetzung).	1^{00} nachm.	Kammerw.	201	1,38	0,620	0,31	T o. s. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 6 (22 mm Hg).
	2^{00} „	Blut	105	0,61	0,265	0,25	
	3^{00} „	„	102	0,50	0,215	0,21	
	4^{00} „	„	103	0,40	0,170	0,17	
	5^{10} „	„	120	0,38	0,160	0,13	
Versuch 14 (5. XI. 13).	11^{05} vorm.	Blut	100	0,25	0,095	0,10	
	11^{05} „	„	118	0,32	0,130	0,11	
Blaugraues Kaninchen,	11^{12} „	Kammerw.	235	0,76	0,335	0,14	r. A. T o. s. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 7 (19 mm Hg).
	11^{15} „	—	—	—	—	—	0,50 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
Gewicht 1825 g.	12^{15} nachm.	Blut	126	0,76	0,335	0,27	T o. s. {5,5 : 3 (25 mm Hg). 7,5 : 5 (26 mm Hg).
	1^{10} „	„	107	0,60	0,260	0,24	
	1^{15} „	Kammerw.	245	1,38	0,620	0,25	l. A. T o. s. {5,5 : 4 (21 mm Hg). 7,5 : 6 (22 mm Hg).
	2^{15} „	Blut	111	0,60	0,260	0,23	
	3^{15} „	„	135	0,45	0,190	0,14	
	4^{15} „	„	124	0,36	0,150	0,12	
	5^{15} „	„	102	0,32	0,130	0,13	
Versuch 15 (6. XI. 13).	9^{50} vorm.	Blut	114	0,37	0,155	0,14	
	9^{50} „	„	100	0,33	0,135	0,14	
Schwarzes Kaninchen,	10^{04} „	Kammerw.	227	0,78	0,340	0,15	r. A. T o. s. {5,5 : 4,0 (21,0 mm Hg). 7,5 : 6,5 (20,5 mm Hg).
	10^{06} „	—	—	—	—	—	1 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
Gewicht 1900 g.	11^{05} „	Blut	123	0,86	0,375	0,30	T o. s. {5,5 : 3,5 (23 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	12^{05} nachm.	„	117	0,92	0,405	0,35	T o. s. {5,5 : 4,0 (21 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	1^{00} „	„	133	0,98	0,430	0,32	
	1^{10} „	Kammerw.	226	1,86	0,840	0,37	T o. s. {5,5 : 3,5 (23 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	2^{05} „	Blut	131	0,73	0,320	0,24	
	3^{05} „	„	109	0,44	0,195	0,18	
	4^{05} „	„	117	0,33	0,135	0,12	
	5^{05} „	„	110	0,28	0,110	0,10	
Versuch 16 (6. XI. 13).	10^{10} vorm.	Blut	112	0,30	0,125	0,11	
	10^{10} „	„	110	0,30	0,120	0,12	
Blaugraues Kaninchen,	10^{15} „	Kammerw.	215	0,65	0,280	0,13	r. A. T o. s. {5,5 : 3,5 (23 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	10^{17} „	—	—	—	—	—	1 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
Gewicht 2400 g.	11^{17} „	Blut	102	0,53	0,225	0,22	T o. s. {5,5 : 4,0 (21 mm Hg). 7,5 : 6,5 (20 mm Hg).
	12^{17} nachm.	„	99	0,76	0,330	0,33	T o. s. {5,5 : 5,0 (18 mm Hg). 7,5 : 8,0 (16 mm Hg).
	1^{15} „	„	110	0,76	0,330	0,30	T o. s. {5,5 : 3,5 (23 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	2^{20} „	„	104	0,66	0,285	0,27	
	2^{25} „	Kammerw.	213	1,72	0,770	0,36	l. A. T o. s. {5,5 : 3,0 (25 mm Hg). 7,5 : 5,5 (24 mm Hg).
	3^{15} „	Blut	92	0,57	0,245	0,27	
	4^{15} „	„	120	0,47	0,200	0,17	
	5^{15} „	„	126	0,35	0,145	0,12	

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge mg	ccm	absol. mg	%	
Versuch 17 (8. XI. 13). Blaugraues Kaninchen, Gewicht 1800 g.	10^{20} vorm.	Blut	110	0,28	0,110	0,10	
	10^{20} „	„	110	0,29	0,115	0,10	
	10^{30} „	Kammerw.	234	0,65	0,280	0,12	r. A. T o. s. {5,5 : 3,5 (23 mm Hg) 7,5 : 6,0 (22 mm Hg).
	10^{40} „	—	—	—	—	—	0,5 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	11^{40} „	Blut	120	0,62	0,270	0,23	T o. s. {5,5 : 4,5 (12,5 mm Hg). 7,5 : 8,0 (16,0 mm Hg).
	12^{35} nachm.	„	111	0,55	0,235	0,21	T o. s. {5,5 : 3,5 (23,0 mm Hg). 7,5 : 6,5 (20,0 mm Hg).
	1^{30} „	„	118	0,64	0,275	0,23	T o. s. {5,5 : 4,0 (21,0 mm Hg). 7,5 : 6,5 (20,0 mm Hg).
	2^{30} „	„	138	0,58	0,250	0,18	T o. s. {5,5 : 4,0 (21,0 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22,0 mm Hg).
	3^{45} „	„	104	0,33	0,135	0,13	
	3^{55} „	Kammerw.	220	0,90	0,395	0,18	T o. s. {5,5 : 3,5 (23,0 mm Hg). 7,5 : 6,0 (22,0 mm Hg).
	4^{40} „	Blut	105	0,33	0,135	0,13	
	5^{40} „	„	118	0,33	0,135	0,11	

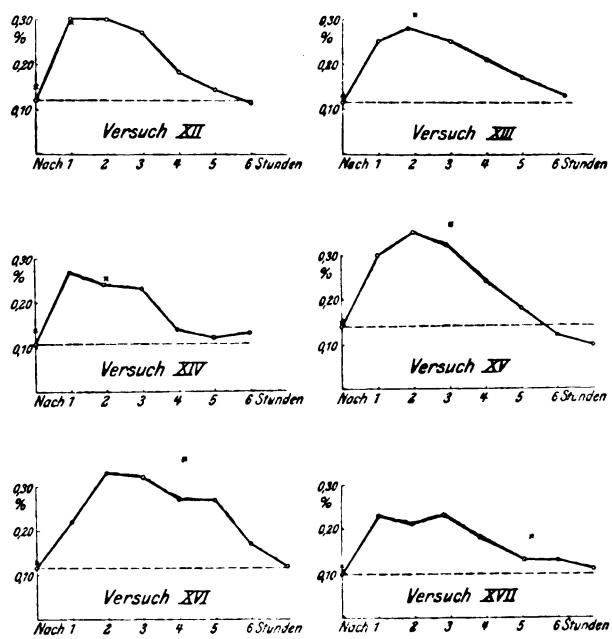


Fig. 8. Graphische Darstellung der gefundenen Zuckerprozentzahlen bei den Adrenalinversuchen 12 bis 17.

Versuche	Zeit für die Entnahme d. Proben usw.	Probe		Verbrauch von n/100-Jodlösung	Zuckermenge der Probe		Anmerkungen
		Art	Menge ccm	ccm	absol. mg	%	
Versuch 18 (13. XI. 13) Kaninchen, Gewicht 3200 g	2^{50} nachm.	Blut	110	0,32	0,130	0,12	
	2^{52} „	Plasma	114	0,36	0,150	0,13	
	2^{52} „	„	116	0,38	0,160	0,14	
	2^{52} „	„	101	0,34	0,140	0,14	
	3^{00} „	—	—	—	—	—	0,75 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	4^{00} „	Blut	104	0,49	0,210	0,20	
	4^{25} „	„	114	0,52	0,225	0,20	
	4^{35} „	„	115	0,55	0,235	0,20	
	4^{36} „	Plasma	117	0,80	0,350	0,30	
	4^{36} „	„	99	0,72	0,315	0,31	
	4^{36} „	„	124	0,84	0,370	0,30	
	4^{50} „	Kammerw.	106	0,62	0,270	0,25	r. A. I. Punktion.
	4^{50} „	„	101	0,54	0,230	0,23	r. A. I. Punktion.
	4^{59} „	„	65	0,40	0,170	0,26	r. A. II. „
	5^{10} „	„	113	0,67	0,290	0,26	r. A. III. „
	5^{50} „	Blut	91	0,46	0,195	0,21	
	6^{00} „	Kammerw.	122	0,64	0,275	0,23	r. A. IV. „
	6^{30} „	Plasma	124	0,80	0,350	0,28	
	6^{30} „	„	127	0,81	0,355	0,28	
	6^{30} „	„	126	0,82	0,360	0,29	
	6^{35} „	Blut	99	0,42	0,180	0,18	
	6^{40} „	Kammerw.	135	0,62	0,270	0,20	r. A. V. „
	6^{45} „	„	95	0,52	0,225	0,24	l. A. I. „
	6^{45} „	„	129	0,69	0,300	0,23	l. A. I. „
	7^{00} „	Blut	120	0,46	0,195	0,17	
Versuch 19 (15. XI. 13) Blaues Kaninchen, Gewicht 2500 g	6^{55} nachm.	Blut	106	0,28	0,110	0,10	
	6^{55} „	„	125	0,30	0,120	0,10	
	6^{55} „	Plasma	95	0,28	0,110	0,12	
	6^{55} „	„	118	0,32	0,130	0,12	
	7^{00} „	—	—	—	—	—	0,75 mg Adrenalin in Lösung 1 : 5000 in den Rücksack injiziert.
	8^{00} „	Blut	100	0,40	0,170	0,17	
	8^{25} „	„	84	0,47	0,200	0,24	
	8^{30} „	Plasma	133	1,14	0,510	0,38	
	8^{30} „	„	94	0,82	0,360	0,38	
	8^{35} „	Kammerw.	125	0,84	0,370	0,30	r. A. I. Punktion.
	8^{35} „	„	135	0,94	0,415	0,31	r. A. I. Punktion.
	8^{45} „	„	108	0,80	0,350	0,32	r. A. II. „
	8^{45} „	„	59	0,45	0,190	0,32	r. A. II. „
	10^{30} „	Blut	123	0,55	0,235	0,20	Kochzeit etwas unsicher.
	10^{38} „	Plasma	134	1,10	0,490	0,37	
	10^{38} „	„	103	0,84	0,370	0,36	
	10^{40} „	Kammerw.	110	0,75	0,330	0,30	l. A. I. Punktion
	10^{40} „	„	122	0,89	0,390	0,32	l. A. I. Punktion
	10^{50} „	„	136	1,00	0,440	0,32	l. A. II. „
	11^{50} „	Blut	102	0,40	0,170	0,17	

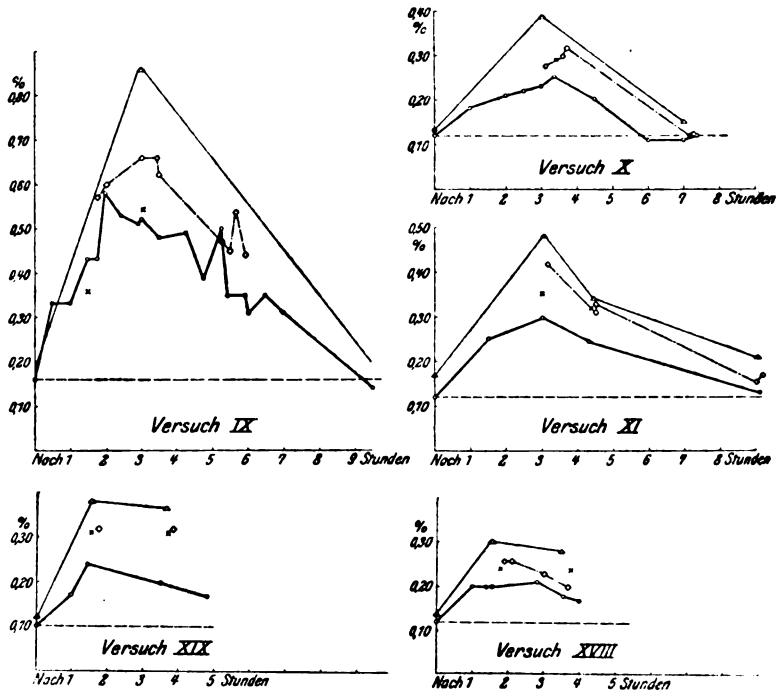


Fig. 9. Graphische Darstellung der gefundenen Zuckerprozentzahlen bei den Adrenalinversuchen 9 bis 11 und 18 bis 19.

Der Gang der Acidität in Kulturen von Aspergillus niger bei wechselnder Stickstoffquelle.

Von

C. Wehmer.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Technisch-chemischen Instituts der Technischen Hochschule zu Hannover.)

(Eingegangen am 5. Dezember 1913.)

Ansäuerung in Pilzkulturen kann bekanntlich Folge sich ansammelnder organischer Säure oder abgespaltener anorganischer Säure sein, letzteres immer dann, wenn als Stickstoffquelle Ammoniaksalze geboten werden; durch Konsum der Basis für Stoffbildungsprozesse resultiert wachsende Acidität der Kulturflüssigkeit. Frühere Feststellungen mit Penicillium[1]) habe ich neuerdings durch einige Versuche mit Aspergillus niger ergänzt; das Resultat ist hinsichtlich des Ammonsulfats ganz verschieden.

Beide Pilze säuern ihre Kulturflüssigkeit zunächst stark an. Während aber die durch die Decken des Penicillium variabile erzeugte Acidität dauernd erhalten bleibt, nimmt solche bei Aspergillus später wieder ab, der Gehalt der Nährlösung an freier Schwefelsäure geht hier allmählich zurück, sie verschwindet bis auf Bruchteile. Naturgemäß ergab sich die Frage nach dem Verhalten des Aspergillus gegen andere anorganische Ammoniaksalze, etwa Salmiak und Ammonnitrat. Hier liegt, wie sich jetzt herausstellte, die Sache ebenso; der zunächst erfolgenden Ansäuerung folgt nach einigen Wochen Säureabnahme. Es handelt sich keineswegs etwa, wie man wohl annehmen könnte, um eine organische Säure — etwa Oxalsäure —, bei Anwesenheit von Ammonsulfat oder

[1]) „Selbstvergiftung in Penicilliumkulturen“ usw. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **31**, 210, 1913, Heft 4.

Salmiak ist, wie ich früher schon feststellte[1]), deren Auftreten in Kulturen dieses Pilzes ausgeschlossen. Das Wiederverschwinden betrifft also die im Stoffumsatz disponibel werdende freie anorganische Säure. Zum Vergleich habe ich die Versuche gleichzeitig noch mit Kaliumnitrat durchgeführt; der Erfolg ist hier natürlich ein ganz anderer.

Zur Methode. Alle Kulturen wurden parallel nebeneinander bei Lichtabschluß im Brutschrank (32 bis 34°) in sterilisierten watteverschlossenen Glaskölbchen gehalten, so daß nach gleichzeitiger Beimpfung mit einer Platinöse Sporen andauernd gleiche äußere Verhältnisse gegeben waren. Nährlösung überall 10% Rohrzucker neben 0,3% Kaliumphosphat (prim.) und 0,1% Magnesiumsulfat (kryst.) auf 50 ccm destilliertes Wasser; dazu kam die wechselnde Stickstoffquelle, die im Verhältnis zu ihrem Stickstoffgehalt gegeben wurde, also 1% Ammonsulfat (mit 21% N) oder 0,6% Ammonnitrat (35% N) bzw. 0,81% Salmiak (26% N) und 1,53% Kaliumnitrat (13,9% N); dies geschah lediglich, um den Pilzdecken in den verschiedenen Versuchen neben gleichen Kohlenstoff- ebensolche Stickstoff-Mengen zu bieten. Ursprünglich hatte ich auch genauere Erntebestimmungen im Auge, es ist das aber schlecht miteinander zu vereinigen.

Die üblichen Nachweismethoden für „freie Säure" in Gemischen sind bekanntlich nicht sehr genau; daß man solche titrimetrisch nicht mit Hilfe von Lackmus oder Phenolphthalein als Indicator bestimmen kann, liegt auf der Hand. Einigermaßen brauchbar erscheint mir noch Kongo[2]), leider ist der Farbenumschlag wenig scharf, das Blau geht bei allmählicher Absättigung der freien Säure erst über Grauviolett in Rot über. Als maßgebend habe ich das Verschwinden des Blau angesehen. Ich habe mich aber damit nicht begnügt, sondern jede einzelne Titrierung gleichzeitig bis zum Farbenumschlag von Lackmus und Phenolphthalein fortgesetzt, dadurch erhält man eine Vorstellung von dem Umfange, in dem „saure" Salze an der durch den Pilz bewirkten Änderung der Nährlösungszusammensetzung beteiligt sind. Das Verfahren

[1]) „Entstehung und physiologische Bedeutung der Oxalsäure im Stoffwechsel einiger Pilze". Botan. Zeitg. **49**, 471 u. f., 1891.

[2]) Siehe Chem.-Zeitg. **1913**, Nr. 4, S. 37; auch l. c. (Note 1, S. 63.)

war demnach so, daß für jeden Fall die Acidität für alle drei Indicatoren bestimmt wurde; der zu titrierenden Flüssigkeitsmenge werden hierzu je ein Stückchen rotes Kongo- und blaues Lackmuspapier[1]), sowie ein Tropfen alkoholischer Phenolphthaleinlösung zugefügt. Dann wird auf den Siedepunkt erhitzt und mit $^n/_{10}$-Natronlauge titriert. Bei Anwesenheit freier Säure schlägt das rote Kongopapier sogleich in Blau, Lackmus in Rot um; tropfenweise Absättigung läßt zunächst das Blau des Kongo (gleich freie Säure), weiterhin das Rot des Lackmus verschwinden, bei noch mehr Alkali tritt zum Schluß dann die rote Färbung des Phenolphthalein auf. Beispiel:

5 ccm der Kulturflüssigkeit verlangten an Kubikzentimeter $^n/_{10}$-N

6,9 ccm bis blaues Kongo in Violettrot übergeht,
9,7 „ „ rotes Lackmus violettblau wurde,
10,6 „ „ zur Rosafärbung der Flüssigkeit.

In der Natur der Methode liegt, daß die Genauigkeit nur annähernd ist, schon bei Titrierung ein und derselben Flüssigkeit kommen kleine Schwankungen in der ersten Dezimale vor; immerhin reichen die Zahlen zur Beurteilung des Sachverhalts völlig aus, bei genauem Arbeiten sind die durchschnittlich gemachten Fehler immer dieselben. Die in Frage stehenden Differenzen zwischen den einzelnen Zahlen sind erheblich größer als die faktischen Fehler[2]). Übrigens gelten die erhaltenen Zahlen selbstverständlich nur für die hier benutzte Nährlösung, ihren besonderen Salz- und Zuckergehalt usw.

Titriert wurde stets mit 5 ccm, die in bestimmten Zwischenräumen aus ein und derselben Kultur mittels Pipette entnommen wurden; ein Vorteil bei Benutzung dieses Pilzes für solche Versuche ist die geringe Gefahr einer Verunreinigung durch das wiederholte Öffnen der Kolben; tatsächlich wurden

---

[1]) Lackmuspapier „Blau" von Kahlbaum-Berlin. Die Art des Reagenspapiers ist nicht ohne Einfluß.

[2]) So ging z. B. die rote Farbe des Lackmuspapiers nach Verbrauch von 0,9 ccm Lauge in Violett, und bei weiteren 0,2 ccm in deutliches Blau über (NH_4NO_3-Nährlösung). In einem anderen Falle 0,7 ccm bis violett, weitere 0,3 ccm bis zur deutlichen Bläuung (KNO_3-Nährlösung).

in keinem Falle Infektionen konstatiert, wie solche z. B. bei Verwendung von Penicilliumkulturen vorkommen.

Hervorgehoben sei, daß mit allen vier Stickstoffverbindungen der Pilz gut gedeiht, Unterschiede sind bei dieser Temperatur sehr gering und sicher schwer zu präzisieren, nach 4 bis 6 Tagen waren die Decken durchweg vegetativ ziemlich gleich gut entwickelt. Unter den eingehaltenen Bedingungen kam es aber nur in den Versuchen mit Kaliumnitrat zu einer reichlichen, die ganzen Decken schwarzbraun färbenden Sporenbildung, alle übrigen Stickstoffquellen liefern erst schneeweiße, späterhin nur dürftig sporenbildende Pilzdecken (Wirkung der freien Säure). Bei Zimmertemperatur ist demgegenüber das Wachstum des Aspergillus niger auf Nährlösung mit Ammonnitrat merklich schlechter; hemmend wirkt hier die Ansammlung freier Oxalsäure, die der Pilz bei günstiger Temperatur (sein Wachstumsoptimum liegt oberhalb 30°) alsbald weiter zersetzt, in gleichem Sinne wirken Ammonsulfat oder Chlorammonium bereits bei Zimmertemperatur[1]).

Durch Entnahme von je 5 ccm Flüssigkeit zu fünf verschiedenen Zeitpunkten aus der nur 50 ccm betragenden Kultur verringert sich, neben der Flüssigkeitsmenge selbst, auch der überhaupt vorhandene Säure- und Salzgehalt gegenüber der gleichbleibenden Pilzdecke; außerdem verringert sich die Nährlösung mit der Zeit durch erhebliche Wasserverdunstung im Thermostaten. Diese Punkte müssen zur Beurteilung der Titerzahlen selbstverständlich in Rechnung gezogen werden. Die festgestellte gleiche Acidität von beispielsweise ca. 20 ccm Nährlösung gegen den Anfang (mit 50 ccm) entspricht also faktisch einer erheblichen Säureabnahme; bei gleicher Säuremenge in dem verringerten Volumen wäre natürlich ein weit höherer Laugenverbrauch zu erwarten gewesen.

1. Kulturen mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle.

Zusammensetzung der Nährlösung (50 ccm):

Rohrzucker	5,00 g	= 10,0%
$(NH_4)_2SO_4$	0,50 g	= 1,0%
KH_2PO_4	0,15 g	= 0,3%
$MgSO_4$, $7\,H_2O$ . . .	0,05 g	= 0,1%

[1]) l. c. (Botan.-Zeitg. 1891). Über frühere abweichende Beobachtungen s. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 18, 220, 1913.

Acidität der ursprünglichen Nährlösung (5 ccm):

gegen Kongorot . . . . = 0,0 ccm $^n/_{10}$-N
„ Lackmus . . . . = 0,8 „ „
„ Phenolphthalein . . = 2,0 „ „

Verlauf (Versuch 1): Rasche Ansammlung freier Säure. Acidität steigt schnell mit der Entwicklung des Pilzes innerhalb der 1. Woche auf gegen 7 ccm Lauge (Kongo als Indicator), fiel dann aber stark ab, so daß 1 Woche später kaum noch die Hälfte vorhanden war; ähnliches Verhalten zeigen die sauren Salze. Die weitere Abnahme der Acidität ist langsam (2. bis 4. Woche); in dem kleinen Rest der farblosen Nährlösung sind nach ca. 6 Wochen von beiden nur noch geringe Mengen vorhanden.

Versuch 2. Titrierung fand hier nur einmal nach sehr langer Versuchsdauer statt, um möglichst völliges Säureverschwinden zu konstatieren; die Kulturflüssigkeit dunstete von 50 auf 17,5 ccm ein. Die nach 120 Tagen vorgenommene Titrierung entsprach jedoch nicht der Erwartung; immerhin hatte sich die freie Säure merklich vermindert, 5 ccm des leicht gelblichen Flüssigkeitsrestes verlangten 4,3 ccm Lauge (bei Kongo als Indicator), 5,5 ccm (bei Lackmus) und 8,5 ccm (bei Phenolphthalein). Auf das ursprüngliche 3fache Volumen berechnet, würden die Zahlen schließlich also auf ungefähr $^1/_3$ sinken. Starke Abnahme der „sauren" Bestandteile steht jedenfalls außer Zweifel.

Die allmähliche Abnahme in Versuch 1 zeigen folgende ermittelten Laugenzahlen[1]):

Indicator	Vor Aussaat ccm	Nach 9 Tagen ccm	Nach 14 Tagen ccm	Nach 20 Tagen ccm	Nach 26 Tagen ccm	Nach 40 Tag.[2]) ccm
Kongo	0	6,9	3,8	3,2	2,7	0,5
Lackmus . . .	0,8	9,7	4.4	4,2	3,7	2,0
Phenolphthalein	2,0	10,6	6,0	6,9	5,4	3,1

[1]) Die Zahlen sind stets Kubikzentimeter $^n/_{10}$-N auf je 5 ccm Kulturflüssigkeit (ebenso weiter unten).

[2]) Nach 40tägiger Kulturdauer mußte der Nährlösungsrest mit Wasser (10 ccm) aufgefüllt werden, um noch 5 ccm für die Titrierung zu erhalten. Die bis auf einen kleinen Rest verdunstete Kulturflüssigkeit war also fast säurefrei. 25 ccm waren durch vorheriges 5maliges Titrieren verbraucht.

2. Kulturen mit Ammonnitrat als Stickstoffquelle.

Zusammensetzung der Nährlösung (50 ccm):

Rohrzucker	5,00 g =	10,0 %
NH_4NO_3	0,30 g =	0,6 %
KH_2PO_4	0,15 g =	0,3 %
$MgSO_4$, $7H_2O$ . . .	0,05 g =	0,1 %

Acidität der ursprünglichen Nährlösung (5 ccm):

gegen Kongo	0,0 ccm
„ Lackmus	0,9 „
„ Phenolphthalein . . .	1,6 „

Verlauf (Versuch 1): Innerhalb der 1. Woche erhebliche Anhäufung freier Säure, die sich dann in den folgenden Wochen stark vermindert, allerdings nicht in dem Maße wie in der Ammonsulfat-Nährlösung; das gilt gleichfalls hinsichtlich der „Salzacidität" (wie kürzehalber die bei Lackmus und Phenolphthalein erhaltenen Zahlen genannt sein mögen), auch ist hier die Differenz zwischen „Säure-" und „Salzacidität", zumal in den ersten Wochen der Kultur, durchweg geringer. Aus dem Ammonnitrat wird vorzugsweise das Ammoniak konsumiert, jedenfalls ist auch zuletzt noch freie Salpetersäure vorhanden; die Acidität von je 5 ccm stellte sich:

Indicator	Vor Aussaat ccm	Nach 9 Tagen ccm	Nach 14 Tagen ccm	Nach 20 Tagen ccm	Nach 26 Tagen ccm	Nach 40 Tag.[1] ccm
Kongo	0,0	5,6	4,1	2,7	3,5	3,3
Lackmus . . .	0,9	5,7	5,4	4,3	3,7	4,0
Phenolphthalein	1,6	5,9	5,4	4,7	4,9	5,1

Auch hier muß für die Beurteilung der Aciditätszahlen der letzten Wochen die erhebliche Volumenverminderung durch Verdunstung bei der Thermostatentemperatur von 32 bis 34° in Anschlag gebracht werden. Sie ist unvermeidlich.

Versuch 2. Wie vorher einmalige Titrierung erst nach 120 Tagen, Volumen der schwach gelblichen, klaren Nährlösung jetzt nur noch 18 ccm. Verbrauchte Lauge auf 5 ccm:

mit Kongo	4,5 ccm
„ Lackmus	5,4 „
„ Phenolphthalein . .	7,3 „

[1]) Volumen der Kulturflüssigkeit wenige Kubikzentimeter (mit 10 ccm Wasser aufgefüllt; s. oben).

Unter Berücksichtigung der Wasserverminderung verkleinern sich die Zahlen auf ca. $^1/_3$. Eine Abnahme der Säure steht also fest.

3. Kulturen mit Salmiak als Stickstoffquelle.

Zusammensetzung der Nährlösung (50 ccm):

Rohrzucker . . .	5,000 g =	10,00%
NH_4Cl	0,405 g =	0,81%
KH_2PO_4	0,150 g =	0,30%
$MgSO_4$, $7H_2O$ . .	0,050 g =	0,10%

Ursprüngliche Acidität der Nährlösung (5 ccm):

gegen	Kongo	0,0 ccm	Lauge
„	Lackmus . . .	1,1 „	„
„	Phenolphthalein	1,3 „	„

Verlauf: Auch hier zunächst starke Ansäuerung zu fast der gleichen „Säureacidität“ wie vorher; dann zeigt sich jedoch abweichendes Verhalten, es werden die Aciditätszahlen für alle drei Indicatoren nicht kleiner, sondern mit zwei Ausnahmen halten sie sich dauernd auf ca. gleicher Höhe. Hier findet also kein Wiederverschwinden der Säure in demselben Verhältnis wie vorher statt, wenn auch unter Berücksichtigung der Volumenverminderung eine Abnahme sicher ist. Der Laugenverbrauch war:

Indicator	Vor Aussaat ccm	Nach 9 Tagen ccm	Nach 14 Tagen ccm	Nach 20 Tagen ccm	Nach 26 Tagen ccm	Nach 40 Tag.[1]) ccm
Kongo	0,0	5,5	5,6	4,9	5,7	5,2
Lackmus . . .	1,1	6,9	7,6	7,7	7,2	6,1
Phenolphthalein	2,3	9,0	9,3	9,8	9,1	6,0

Der Parallelversuch Nr. 2 gab hier gleich hohe Zahlen, nach 120 Tagen wurden verbraucht von der noch 19,8 ccm betragenden hellgoldgelben, klaren Kulturflüssigkeit (5 ccm):

bei Kongo	als Indicator . .	5,8 ccm	Lauge
„ Lackmus	„ „ . .	7,3 „	„
„ Phenolphthalein	„ „ . .	11,9 „	„

[1]) Wie vorher Volumen des Restes der Kulturflüssigkeit mit 10 ccm Wasser aufgefüllt.

4. Kulturen mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle.

Nährlösungszusammensetzung (50 ccm):

Rohrzucker	5,00 g =	10,00%
KNO_3	0,76 g =	1,53%
KH_2PO_4	0,15 g =	0,30%
$MgSO_4$, $7H_2O$ . . .	0,05 g =	0,10%

Ursprüngliche Acidität der Nährlösung (5 ccm):

gegen Kongo	0,0 ccm	Lauge
„ Lackmus	0,8 „	„
„ Phenolphthalein .	1,2 „	„

Verlauf: Die Ansäuerung durch freie Säure war hier zweifelhaft bzw. sehr gering, erheblich aber durch saure Salze, letzteres wenigstens in den ersten 2 Wochen der Kulturdauer. Offenbar bildet sich zunächst nach Verbrauch der Salpetersäure des K-Nitrats saures Alkalioxalat, das späterhin wieder zersetzt wird, so daß schließlich blaues Lackmus von der Kulturflüssigkeit nicht mehr verändert wird. Dementsprechend sinken die Aciditätszahlen schon nach 3 Wochen auf ganz geringe Werte. Die auftretende freie Säure wäre hier Oxalsäure, die der Pilz sonst allerdings nur bei minder hohen Temperaturen abspaltet. Daß Alkalioxalat von Aspergillus zu Carbonat zersetzt werden kann, zeigte ich schon früher[1]), ebenso, daß durch die abgespaltene Oxalsäure der Kultur zugesetztes neutrales Kaliumoxalat unter Bindung jener in saures Salz übergeht. Übrigens scheint es mir angesichts des Verhaltens von Kleesalz gegen Kongo noch nicht ganz sicher, ob hier wirklich freie Oxalsäure in der Kultur erscheint.

Laugenverbrauch:

Indicator	Vor Aussaat ccm	Nach 9 Tagen ccm	Nach 14 Tagen ccm	Nach 20 Tagen ccm	Nach 26 Tagen ccm	Nach 40 Tag.[2]) ccm
Kongo	0,0	2,0 (?)	1,2 (?)	0,0	0,0	0,0
Lackmus . . .	0,8	8,9	5,1	1,8	1,0	0,8
Phenolphthalein	1,2	9,5	5,3	2,8	1,2	1,6

[1]) l. c. (Botan. Ztg. **1891**, 327); Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 9. Heft 7, S. 218f., 1891.

[2]) Aufgefüllt mit 10 ccm Wasser, wie oben.

Der starke Rückgang der Acidität nach 2 bis 3 Wochen deutet gleichzeitig an, daß nunmehr Zuckermangel eintritt.

In der Parallelkultur, deren Flüssigkeitsvolumen sich nach 120 Tagen auf 22,1 ccm vermindert hatte, war „Acidität" nur noch mittels Phenolphthalein festzustellen (1,5 ccm Lauge), rotes Lackmus wurde gebläut; übrigens ist in diesen dunklen (gelbbraunen) Flüssigkeiten spez. der Kaliumnitrat-Nährlösung halbwegs sicheres Titrieren nicht gut möglich; die Kulturflüssigkeiten mit den Ammoniaksalzen bleiben dagegen dauernd fast wasserhell bis leicht gelb[1]). In jenen löst sich alsbald der dunkelbraune Sporenfarbstoff (Folge der alkalischen Reaktion).

5. Ältere Kulturen mit verschiedenen Stickstoffverbindungen.

Diese Kulturen seien nur beiläufig mit aufgeführt; die Zahlen sind nicht direkt mit obigen vergleichbar, weil Menge und gegenseitiges Verhältnis der Salze ein anderes war (0,8% des Salzgemisches im Verhältnis von 1 : 0,5 : 0,25), sie wurden aber 5 Monate lang (März bis August) auf ihre Acidität dauernd geprüft (Zimmertemperatur, nicht Thermostat). Der Laugenverbrauch für je 5 ccm Nährlösung war:

N-Quelle	Indicator	Nach 4 Wochen ccm	Nach 20 Wochen ccm
Ammonsulfat	Kongo	1,8	1,0
	Lackmus	2,6	2,3 bis 3,2
	Phenolphthalein	5,6 i. M.	7,3 i. M.
Ammonnitrat	Kongo	2,0 bis 3,6	0,0
	Lackmus	—	0,0
	Phenolphthalein	5,2 i. M.	3,7
Kaliumnitrat	Kongo	0,0	0,0
	Lackmus	0,2	0,0
	Phenolphthalein	1,8 bis 2,3	0,4 bis 2,0

Hier war also freie Säure in der Kaliumnitrat-Nährlösung (wie anzunehmen) überhaupt nicht, in der mit Ammonnitrat nicht mehr nach 20 Wochen nachweisbar; letztere war jetzt tiefbraun gefärbt (alkalisch). An Flüssigkeitsmengen waren in den Kolben schließlich nur noch 5 bis 15 ccm vorhanden. Die Tatsache allmählicher Entsäuerung tritt auch hier deutlich

[1]) Genauer: farblos [bei $(NH_4)_2SO_4$], gelblich (bei NH_4NO_3), hellgoldgelb (bei NH_4Cl) und mittelbraun (KNO_3), dabei stets wasserklar.

hervor; das ist wohl kaum die Folge einer Zersetzung durch die Pilzdecke.

Erntegewichte (Pilztrockensubstanz).

Nach Beendigung der Titrierversuche wurden noch die Gewichte der Pilzdecken bestimmt; nach so langer Versuchsdauer können diese Zahlen natürlich keinen Anhalt mehr über die faktische Stoffbildung geben, das Pilzgewicht nimmt auf der erschöpften Nährlösung später wieder merklich ab. Da die Decken aber durchweg noch frisch und derb [also nicht verfallen[1])] waren, wollte ich die Gewichte wenigstens beiläufig festlegen; im ganzen trifft der Fehler auch die verschiedenen Versuche ziemlich gleichmäßig. Untereinander verglichen werden können sie also immerhin, weiter war nichts beabsichtigt.

Hierzu wurden die Decken nach Entfernung aus den Kolben vorsichtig mit Fließpapier abgetupft (zur Beseitigung anhaftender Flüssigkeitsreste; also nicht ausgewaschen!), teils frisch, sonst nach dem Trocknen gewogen (2 Tage bei 90°).

Gewachsen auf der Nährlösung mit	Frisch g	Trockensubstanz g
1. Ammonsulfat	13,8	1,521
	—	1,050
2. Ammonnitrat	12,8	1,792
	—	1,650
3. Ammonchlorid	9,9	1,670
	—	1,540
4. Kaliumnitrat	7,7	0,860
	—	0,860

Weitergehende Schlüsse kann ich aus den Zahlen nicht ableiten, nur eins scheint mir in Übereinstimmung mit dem Kulturresultat — gutem Wachstum — daraus sicher hervorzugehen: **Ammonnitrat ist für Aspergillus niger bei hoher Wachstumstemperatur (32 bis 34°) keine schlechtere Stickstoffquelle als das Sulfat und Chlorid;** bei Zimmerwärme (20°) ist es bekanntlich ausgesprochen minder-

[1]) Fest, stark gefaltet, grauweiß mit spärlichen Conidienträgern in Nr. 1 bis 3, schwarzbraun, dicht mit Conidienträgern besetzt in Nr. 4. Wassertropfenausscheidung besonders in Nr. 4.

wertig, hier gaben mir die zwei letzteren Salze früher neben besserem Wachstum wesentlich höhere Trockengewichte[1]). Offenkundig liegt der Grund hierfür in der nur in Ammonnitrat-Nährlösungen bei niederer Temperatur sich ansammelnden freien Oxalsäure; günstigere Wachstumstemperatur hebt also in diesem Falle den Einfluß einer minder geeigneten Stickstoffquelle auf.

Alle Kulturflüssigkeiten waren bei Abschluß der Versuche zuckerfrei [keine Cu_2O-Reduktion[2])] — voraussichtlich auch schon früher —; ob auch der gebotene Stickstoff voll ausgenutzt ist, läßt sich kaum entscheiden; das mit Natronlauge in der Wärme aus ihnen abgespaltene Ammoniak[3]) kann schon wieder dem Eiweißzerfall entstammen.

Zusammenfassung.

Wenn auch die Resultate durch das bei der Thermostaten-Temperatur unvermeidliche Schwinden der Nährlösung getrübt werden — absolut dichter Watteverschluß ist natürlich ausgeschlossen, er würde den Gaswechsel hemmen —, so stehen einige Punkte doch fest. In allen Fällen, wo dem Aspergillus niger anorganische Ammoniaksalze als Stickstoffquelle geboten werden, findet alsbald reichliche Ansammlung freier anorganischer Säure statt (Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure), die dann im Verlaufe der nächsten Wochen wieder abnimmt; bei der Schwefelsäure war diese Abnahme auffälliger, bei Salzsäure am geringsten; vielleicht wirkt Cl schädlicher als SO_4[4]). Der Pilz wird demnach mit diesen Säuren, ohne daß sie ihn in seiner vegetativen Entwicklung merklich stören, alsbald fertig, sie hemmen lediglich die Sporenbildung; er verhält sich durchaus verschieden von dem Penicillium variabile, das durch die so angesammelte Säure (Schwefelsäure) abstirbt, also sich selbst vernichtet[5]). Die erreichte

[1]) l. c. Botan. Zeitg. 1891, S. 471, Tabelle II. — Spätere Literaturangaben habe ich l. c. 1913 zusammengestellt.

[2]) Prüfung mit je 25 Tropfen gegen Fehlingsche Lösung negativ.

[3]) Durch Geruch beim Titrieren festgestellt.

[4]) Vgl. Czapek, Biochemie der Pflanzen 2, 105, 1905.

[5]) l. c. (oben). Auch andere Penicillium-Arten werden — wie ich inzwischen festgestellt habe — durch die abgespaltene Schwefelsäure in ihrer Entwicklung stark beeinträchtigt. Über das Penicillium s. Mykologisch. Centralbl. 2, 195, 1913.

Acidität von 11 bis 13,8 ccm $^{n}/_{10}$-N auf 100 ccm seiner Kulturflüssigkeit hindert Aspergillus nicht, sie wird langsam wieder auf ungefähr 1 bis 2 ccm $^{n}/_{10}$-N und darunter vermindert. Mit der freien Säure geht auch die durch Salze bedingte Acidität zurück.

Durch Verbrauch für Stoffbildungsvorgänge können jedenfalls Salzsäure und Schwefelsäure nicht verschwinden, auch scheint mir ausgeschlossen, daß hier eine faktische Zersetzung vorliegt, der Vorgang ist wohl richtiger durch Neutralisation zu erklären; dafür kämen dann die beim Eiweißzerfall von den älteren Pilzdecken gebildeten basischen Produkte in Frage (Ammoniak und Derivate), zu dieser Zeit ist der in der Nährlösung gebotene Zucker verbraucht, die noch lebende bzw. atmende Pilzdecke befindet sich im Hungerstadium. So erklärt sich jedenfalls auch ungezwungen die stärkere Aciditätsabnahme in der Versuchsreihe 1, wo durch fortgesetzte Entnahme der Nährlösung für die Titrierungen allmählich diese Pilzwirkung immer mehr ins Gewicht fällt, und zumal die Schwefelsäure stark zurückgeht. Unter Berücksichtigung der Volumverminderung ist aber auch in der Kulturreihe 2 die Acidität nach rund 120 Tagen erheblich geringer als anfangs (Vergleich mit Kulturreihe 1).

Es erscheint begreiflicherweise also das zunächst unter Säureabspaltung im Stoffwechsel konsumierte Ammoniak nach einer gewissen Zeit wieder als Spaltprodukt in der Kulturflüssigkeit, hier die vorher disponibel gewordene Säure wiederum absättigend; die Gesamtacidität der Nährlösung kommt bei verbrauchter Zuckernahrung und damit stagnierendem Umsatz in rückläufige Bewegung.

Aus der Tatsache des fortgesetzten Rückganges der Acidität ergibt sich also gleichzeitig, daß die Pilzdecke oder doch ein erheblicher Anteil derselben, sehr lange am Leben bleibt, andere Erklärungen scheinen mir dafür nicht möglich. Das ist somit wenigstens 7 Wochen — soweit reichen die kontinuierlichen Feststellungen der einen Reihe —, vielleicht aber noch länger; allerdings ist die Aciditätsabnahme nach 120 Tagen nicht mehr so erheblich. Schon das Aussehen der Decken deutet darauf, daß sie noch nicht abgestorben sind — tote Pilzdecken sehen anders aus —, hier hätten aber Prüfungen durch Aus-

saaten auf neue Nährlösung einzusetzen. Wennschon Aspergillus niger als ein Pilz von wenig langer Lebensdauer gilt (auch seine Conidien bleiben kaum über 1 Jahr hinaus keimfähig), so hebe ich das doch hervor, weil den vegetativen Hyphen desselben früher eine Dauer von nur wenigen (4 bis 5) Tagen gegeben wurde[1]). Solches kann natürlich nur für ganz bestimmte Verhältnisse zutreffen; in meinen Versuchen stand die Pilzdecke nach etwa 1 bis 2 Wochen auf der Höhe ihrer Entwicklung, weiterhin kann schon deshalb von erheblichen Neubildungsprozessen nicht mehr die Rede sein, weil der Zuckervorrat nahezu erschöpft ist, an dem späteren Säureverzehr beteiligen sich also wohl sicher vorwiegend alte Hyphen.

Eine absterbende Pilzdecke kann auf die Zusammensetzung ihrer Kulturflüssigkeit keinen Einfluß mehr haben, das zeigte ich bereits — wenn dies überhaupt bewiesen werden muß — an dem Beispiel des Penicillium variabile, das nach Ansammlung einer bestimmten Menge freier Schwefelsäure auf seiner Nährlösung abstirbt[2]); es ändert sich dann die Acidität fernerhin weder gegen Kongo noch gegen Lackmus oder Phenolphthalein. So verlangten 10 ccm (bei Phenolphthalein als Indicator) hier an $^n/_{10}$-N:

nach 4	Wochen	. . . .	6,4	bis 6,8	ccm
„ 8	„	. . . .	6,6	„ 7,0	„
„ 10	„	. . . .	6,0	„ 7,0	„
„ 13	„	. . . .	6,1	„ 7,0	„

Ebenso blieb die Acidität gegen Kongo im Verlaufe der ganzen Beobachtungsdauer von 13 Wochen regelmäßig um ca. 5 ccm $^n/_{10}$-N herum stehen.

Die Sachlage ist also verschieden; bei der Verarbeitung von Ammoniaksalzen anorganischer Säuren spielt zunächst die besondere Art des Organismus, hier also des Pilzes, weiterhin die der Säure eine ausschlaggebende Rolle; Aspergillus niger macht keinen erheblichen Unterschied, Penicillium variabile dagegen unterscheidet scharf zwischen schwefelsauren und sonstigen Ammoniaksalzen; die aus dem Ammonsulfat abgespaltene Schwefelsäure legt den Stoffwechsel des

[1]) Köhler, Flora 97, 216, 1907.

[2]) l. c. (oben). Völlig anders verhält sich also der säure-unempfindliche Aspergillus niger.

gegen sie sehr empfindlichen Pilzes lahm und bleibt so in der Kulturflüssigkeit dauernd erhalten. Aspergillus niger scheint gerade gegen diese Säure besonders unempfindlich.

Zusammenstellung der Zahlen.

Laugenverbrauch für je 5 ccm Kulturflüssigkeit von Aspergillus niger ($^n/_{10}$-N). Ursprüngliche Zusammensetzung 10 % Rohrzucker, 0,3 % KH_2PO_4, 0,1 % $MgSO_4$ (kryst.), N-Verbindung wie unten angegeben. Je 50 ccm.

N-Verbindung	Indicator	Vor Aussaat	Nach 9 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 20 Tagen	Nach 26 Tagen	Nach 40 Tag.[1])	Nach 120 Tagen
$(NH_4)_2SO_4$	Kongo . . .	0	6,9	3,8	3,2	2,7	0,5	4,3
0,5 g	Lackmus . .	0,8	9,7	4,4	4,2	3,7	2,0	5,5
(1 %)	Phenolphth.	2,0	10,6	6,0	6,9	5,4	3,1	8,5
NH_4NO_3	Kongo . . .	0	5,6	4,1	2,7	3,5	3,3	4,5
0,39 g	Lackmus . .	0,9	5,7	5,4	4,3	3,7	4,0	5,4
(0,78 %)	Phenolphth.	1,6	5,9	5,4	4,7	4,9	5,1	7,3
NH_4Cl	Kongo . . .	0	5,5	5,6	4,9	5,7	5,2	5,8
0,41 g	Lackmus . .	1,1	6,9	7,6	7,7	7,2	6,1	7,3
(0,82 %)	Phenolphth.	2,3	9,0	9,3	9,8	9,1	6,0	11,9
KNO_3	Kongo . . .	0	2,0	1,2	0	0	0	0
0,76 g	Lackmus . .	0,8	8,9	5,1	1,8	1,0	0,8	0
(1,53 %)	Phenolphth.	1,2	9,5	5,3	2,8	1,2	1,6	1,5

[1]) Die ersten 5 Kolonnen (bis 40 Tage) beziehen sich auf die fortgesetzt um die titrierten Flüssigkeitsmengen (je 5 ccm) verminderte Kulturreihe 1; die 6. Kolonne gibt die Aciditätszahlen der 2. Kulturreihe, deren Flüssigkeits-Volumina nur durch Verdunstung im Thermostaten auf ca. $^1/_3$ vermindert waren (s. oben), wieder.

Die Wirkungsbedingungen der Speicheldiastase.

Von

L. Michaelis und H. Pechstein.

(Aus dem biologischen Laboratorium des Städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 7. Dezember 1913.)

Mit 3 Figuren im Text.

Nachdem die Untersuchungen der letzten Jahre für eine Reihe von Fermenten den großen Einfluß der H-Ionenkonzentration auf die Wirksamkeit dieser Fermente gezeigt hatten, untersuchte Ringer[1]) diese Verhältnisse auch für die Speicheldiastase. Ringer legte die H-Ionenkonzentration durch drei verschiedene Arten von Puffergemischen fest, durch Phosphat-, Citrat- und Acetatgemische, und fand das Optimum der Wirksamkeit bei 38° bei einer H-Ionenkonzentration von $1 \cdot 10^{-6}$, sobald diese durch Phosphate und Acetate festgelegt worden war, für die Citrate aber etwas nach der alkalischen Seite verschoben, und zwar mit steigender Citratkonzentration um so stärker, bei $p_H = 6{,}58$ und 6,76. Bei den Phosphatgemischen hatte sich das Optimum innerhalb der Versuchsfehler unabhängig von der Phosphatkonzentration und lediglich abhängig von der H-Ionenkonzentration gezeigt. Die Wirksamkeit des Fermentes wurde durch Bestimmung der aus Stärke gebildeten Zuckermenge ersehen. Es zeigte sich nun, daß bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration bei Gegenwart von Phosphaten und Acetaten gleichviel Zucker gebildet wurde, also die Wirksamkeit des Fermentes die gleiche war. Bei Citraten war sie geringer, und zwar absolut, als auch bei saurer Reaktion relativ, da ja das Wirkungsoptimum bei Citratgegenwart etwas nach der alkalischen

[1]) Ringer, Einfluß der Reaktion auf die Ptyalinwirkung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 484, 1913.

Seite verschoben war. Andererseits fand Ringer einen hemmenden Einfluß der Phosphate gegenüber salzfreier Lösung. (Beides bei $p_H = 7{,}07$ untersucht.) Die Abhängigkeit des Wirkungsoptimums von der Wasserstoffionenkonzentration zeigte also bei der Diastase ein anderes Bild als bei den bisher darauf untersuchten Fermenten, insofern als bei letzteren das Wirkungsoptimum lediglich von der H-Ionenkonzentration abhängig war, während die Anwesenheit anderer Ionenarten die Wirksamkeit wohl zu hemmen oder zu fördern, niemals aber die optimale Reaktion zu ändern vermochte. Durch gleichzeitige Bestimmung des isoelektrischen Punktes und der Wirkungskurven in ihrer Abhängigkeit von der H-Ionenkonzentration war es bei diesen Fermenten gelungen, von ihnen auszusagen, daß sie erstens Elektrolyte seien und daß zweitens ihre Wirksamkeit an einem ihrer elektrolytischen Dissoziationsprodukte oder an ihrem undissoziierten Anteile haftete. Diese Verhältnisse auch bei der Diastase, sowie den Einfluß noch anderer Ionenarten auf optimale Reaktion und Wirkungsstärke zu studieren, ist der Zweck der folgenden Untersuchungen.

Versuchstechnik.

Als Fermentlösung wurde menschlicher, filtrierter und aus später anzuführenden Gründen dialysierter Speichel in 1 bis $10\,\%$iger Lösung als Stammlösung verwandt. Als Wirkungssubstrat diente lösliche Stärke, die in destilliertem Wasser aufgekocht, filtriert und dann noch mehrere Tage dialysiert wurde. Die Stammlösung war $1\,\%$. Die Einwirkung fand bei Zimmertemperatur von 18^0 statt. Die Mengenverhältnisse waren in den einzelnen Versuchen ganz verschiedene und sind später jedesmal angeführt. Die H-Ionenkonzentration wurde durch Acetat- und Phosphatgemische festgelegt, ebenfalls in den verschiedensten molaren Konzentrationen. Der Prozeß wurde nach dem Prinzip der Wohlgemuthschen[1]), aber für unsere Zwecke bedeutend abgeänderten Methode durch Jodzusatz unterbrochen, und zwar meist durch genau 10 ccm einer $^n/_{1000}$-Jodlösung. Eine so stark verdünnte Lösung wurde angewandt, um die quantitativen Versuchsfehler, die beim Pipettieren der Jod-

[1]) Diese Zeitschr. **9**, 1, 1908.

lösung entstehen konnten, möglichst auszuschalten. Ein geringer Überschuß von Jod nämlich in einer von zwei gleichweit abgebauten Stärkelösungen ruft bereits eine andere Farbennuance hervor, weshalb wir die zuerst geübte Technik des Zusatzes von einer bestimmten Tropfenanzahl einer $^{n}/_{10}$-Jodlösung wegen der ungleichen Größe der Tropfen als unbrauchbar aufgaben. Die Wasserstoffionenkonzentration wurde auf elektrometrischem Wege bestimmt, und zwar in parallel angesetzten Versuchen oder durch Entnahme einer bestimmten Menge von Flüssigkeit vor dem Jodzusatze. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß die Lösungen nach dem Jodzusatze zur Messung unbrauchbar wurden, da sie zu saure Werte zeigten und das Potential nach kurzem Anstiege zu fallen begann. Erste, orientierende Versuche zeigten, daß die Färbung der Jodstärkelösung vom Salzgehalte und der H-Ionenkonzentration, soweit diese auf saurem Gebiete lag, unabhängig war. Im alkalischen Bereiche trat eine mehr oder minder schnelle Entfärbung der anfänglichen Jodfärbung ein, weshalb hier der Verdauungsprozeß durch eine mittels Essigsäure angesäuerte Jodlösung unterbrochen wurde.

Neutralsalzeinfluß.

Bezüglich der umfangreichen, aber sich in vielen Punkten widersprechenden Literatur über den Einfluß der Neutralsalze auf die Diastasewirkung verweisen wir auf Oppenheimers „Fermente". Keine der uns bekannten Arbeiten berücksichtigt bei diesen Studien die Reaktion der Lösungen. Wird diese bei Verwendung der eigentlichen Neutralsalze, wie NaCl usw., bei den einzelnen Versuchen untereinander wohl ziemlich gleich und mithin die Resultate untereinander vergleichbar gewesen sein, so ist dies doch keinesfalls bei Salzen der Fall, die, wie z. B. die Phosphate, die Reaktion der Lösung ändern. Wenn Bang[1]) daher zu seiner Speichellösung sekundäres Phosphat hinzufügt und die Diastase unwirksam wird, so liegt dies nicht daran, daß das Phosphat das Kochsalz aus einer wirksamen Kochsalz-Ptyalin-Verbindung verdrängt und eine unwirksame Phosphorsäure-Ptyalin-Verbindung bildet, sondern vielmehr daran, daß schon bei neutraler Reaktion die Speichelwirkung abnimmt

[1]) Bang, Über Diastasen I. Diese Zeitschr. 32, 417, 1911.

und mit wachsender Alkalität allmählich gleich Null wird. Ringer fand die diastatische Kraft des Speichels bereits bei $p_H = 7{,}5$ fast gleich Null, während wir noch bei 7,75 geringe Wirkung wahrnahmen. Beides aber sind Reaktionen, die noch nicht einmal annähernd so alkalisch sind als Lösungen von sekundärem Natriumphosphat. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim primären Phosphat; diese unterdrücken die Diastasewirkung, weil sie stark sauer sind. Gemische beider aber können die ganze Reaktionsbreite von völliger Unwirksamkeit auf saurem Gebiete über das Optimum hinaus bis zur Unwirksamkeit auf alkalischem Gebiete umfassen. Die Versuche Bangs zeigen also keine spezifische Phosphatwirkung, sondern den Einfluß der Wasserstoffionen in den verschiedensten Konzentrationen, und es ist nur zu bedauern, daß Bang die Reaktion niemals gemessen hat. Es ist dies um so mehr zu verwundern, als Bang selbst an eine eventuelle Säureschädigung bei konzentrierter angewandtem prim. Phosphate dachte, und der große Einfluß der Reaktion auf die Wirksamkeit der Fermente in den letzten Jahren doch bereits sattsam bekannt war.

Unsere ersten Versuche sollten uns überzeugen, ob wir mit unserer Methode zu denselben Ergebnissen wie Ringer gelangen würden.

5 Erlenmeyer-Kölbchen wurden mit folgenden Lösungen beschickt: 4 ccm 1%ige Stärkelösung, 1 ccm 10%iger Speichel (beides in unseren ersten Versuchen noch nicht dialysiert), 5,5 ccm Acetatgemisch verschiedener Zusammensetzung und 50 ccm dest. Wasser. Nach 15 Min. wurde in jedem Kölbchen die Verdauung durch 10 ccm $^n/_{1000}$-Jodlösung unterbrochen. Kölbchen 1 war violett, 2 bis 5 bordeauxrot ohne gröberen Unterschied untereinander. Die elektrometrische Messung ergab $p_H(1) = 5{,}7$, $p_H(2) = 5{,}9$ und $p_H(5) = 6{,}4$, d. h. das Optimum lag zwischen 5,9 und 6,4, war jedoch nach der alkalischen Seite zu noch nicht sicher abgegrenzt. Hierfür wurden Phosphatgemische angewandt, im übrigen blieb aber die Versuchsanordnung dieselbe. Es wurden wieder 5 Kölbchen angesetzt und der Versuch nach 25 Min. unterbrochen. Kölbchen 1 gelb, 2 rotgelb, 3 blaurot, 4 violett, 5 stahlblau. Die elektrometrische Messung ergab: $p_H(1) = 6{,}12$, $p_H(2) = 6{,}51$, $p_H(4) = 6{,}96$, d. h. 6,1 war Optimum, während bei 6,5 die Wirkung schon schwächer wurde. Ein zweiter Versuch ergab Gleichheit der Farbe zwischen 6,0 und 6,4, während 5,8 und 6,5 bereits schlechter waren.

Das H-Ionenoptimum war also bei der Regulierung durch Phosphate und Acetate das gleiche, und sein Wert deckte sich befriedigend mit den Ergebnissen Ringers, zumal wenn man

berücksichtigt, daß Ringer bei 37° arbeitete. Weitere Versuche zeigten, daß bei gleicher H-Ionenkonzentration die Wirksamkeit der Diastase bei Regulierung durch Phosphate und Acetate quantitativ die gleiche war. Um ferner den Einfluß der Salzkonzentration zu ersehen, wurden 5 Kölbchen bei einer Reaktion von $p_H = 6{,}0$ angesetzt, jedoch so, daß diese Reaktion durch molar verschieden konzentrierte Phosphatpuffer hervorgerufen wurde ($^1/_{200}$, $^1/_{100}$, $^1/_{50}$, $^1/_{25}$ und $^1/_5$ molar als endgültige Konzentration in den Kölbchen). Es zeigte sich kein nennenswerter Unterschied zwischen $^1/_{200}$ und $^1/_5$. Bei späteren Versuchen, die mit Acetaten ausgeführt wurden, zeigte sich meist ein leichtes Zurückbleiben in der Wirkung, sobald die Natriumacetatkonzentration $^n/_{10}$ überschritt. Auch diese Versuche ergaben Übereinstimmung mit den Ringerschen Resultaten, nur gingen sie betreffs der Variation der Salzkonzentration noch über diese hinaus.

Um eine irreversible Schädigung durch Säure und Alkali zu prüfen, wurden folgende Versuche angesetzt:

Zu je 50 ccm 1%ige Stärkelösung wurden 1. 0,4 ccm $^n/_{10}$-Essigsäure, 2. 0,4 ccm $^n/_{10}$-Essigsäure + 2,8 ccm n-Acetatlösung, 3. 2,34 ccm n-prim. Phosphatlösung + 0,46 ccm n-sek. Phosphatlösung und 4. 0,46 ccm n-sek. Phosphatlösung zugesetzt und die Lösungen 1 Stunde stehen gelassen. Die elektrometrische Messung ergab $p_H = 4{,}07$ für die reine Essigsäurelösung, $p_H = 6{,}30$ für das Acetatgemisch, 6,20 für das Phosphatgemisch und 7,46 für die reine sek. Phosphatlösung.

Nach einer Stunde wurden zu dem Kölbchen mit der Essigsäure 2,8 ccm n-Acetat und zu dem Kölbchen mit dem sek. Phosphat 2,34 ccm prim. Phosphat hinzugefügt, so daß nunmehr die Reaktion in dem 1. und 2., sowie in dem 3. und 4. untereinander gleich sein mußte. Hierauf wurde zu jedem Kölbchen je 1 ccm 10%ige Speichellösung zugesetzt und nach weiteren 20 Minuten der Prozeß durch Jodzusatz unterbrochen. Es zeigte Kölbchen 1 und 2 die gleiche Farbennuance und ebenso 3 und 4.

Das Stehen von 1 Stunde bei einer sauren Reaktion von $p_H = 4{,}07$ und bei einer alkalischen Reaktion von $p_H = 7{,}46$, bei welchen beiden die Wirksamkeit der Diastase stark herabgesetzt ist, ruft also keine irreversible Schädigung des Fermentes hervor. Starke Säuren und Alkalien töten aber die Diastase in wenigen Minuten ab, worüber wir Protokolle uns sparen können.

Nunmehr schritten wir zu dem Studium anderer Ionen-

arten und begnügten uns vorerst mit dem Einfluß von NaCl, KCl, Na_2SO_4 und $NaNO_3$.

In je 5 mit Stärkelösung beschickten Kölbchen wurde durch ein Acetatgemisch, dessen Reaktion ungefähr bei $p_H = 6{,}0$ lag, die H-Ionenkonzentration festgelegt, und zwar so, daß die Konzentration an Acetat nur $^n/_{200}$ betrug. Je eines der 4 ersten Kölbchen erhielt dann Kochsalz, Kaliumchlorid, Sulfat- und Nitratlösung in solcher Menge, daß die Konzentration an diesen Salzen $^n/_{10}$ betrug. Hierauf wurde überall je 1 ccm Speichellösung zugesetzt und der Prozeß nach 20 Minuten durch Jod unterbrochen. Die beiden Chloridlösungen waren gelb und also bereits total verdaut, das Sulfatkölbchen zeigte dieselbe Farbnuance wie das Kölbchen 5, das nur das Acetatgemisch enthielt, und war rot mit leichtem Stich ins Blaue, während das Nitratkölbchen noch dunkelblau war. Derselbe Versuch wurde mit wechselnden Salzkonzentrationen und auch auf saurem Gebiete von $p_H = 5{,}3$ geprüft und zeigte stets dasselbe Resultat.

Da wir das neutralsalzfreie, d. h. das nur $^n/_{200}$-Acetat enthaltende Kölbchen zunächst als praktisch salzfrei ansahen, so schlossen wir aus unseren Befunden, daß das Natriumchlorid und Kaliumchlorid, mithin das Chlorion, wie dies ja auch schon Wohlgemuth und andere Autoren angegeben hatten, den diastatischen Prozeß stark fördere, das Sulfation ihn ohne Einfluß ließe, während das Nitrat ihn stark hemmte. Dieser Befund schien zunächst den Resultaten Wohlgemuths[1]) und Bangs (l. c.) zu widersprechen, die für das Nitrat einen fördernden Einfluß gefunden hatten, freilich bedeutend schwächer als der des Chlorions. Um nun den stark fördernden Einfluß des Chlorions noch näher zu studieren, setzen wir weitere Kölbchen mit dem verschiedensten Kochsalzgehalte zwischen $^n/_{20}$ und $^n/_{10000}$ an. Es zeigte sich die gleiche fördernde Wirkung bei einem NaCl-Gehalte von $^n/_{20}$ bis $^n/_{1000}$, bei geringerem Gehalte wurde die fördernde Wirkung immer schwächer, aber selbst bei $^n/_{10000}$, also bei den minimalsten und chemisch eigentlich kaum mehr definierten Spuren zeigte sich gegenüber der kochsalzfreien Lösung noch immer eine geringe Förderung. Andererseits konnten wir eine hemmende Wirkung des Nitrates bis zu einem Gehalt von $^n/_{1000}$ wahrnehmen; bei noch schwächerem Salzgehalte war die Wirksamkeit gleich der der salzfreien Kontrolle. Bei diesem Einfluß selbst der minimalsten Salzspuren, durften wir aber unsere wenn auch stark verdünnte Speichel- und Stärkelösung nicht mehr als praktisch salzfrei ansehen.

[1]) Diese Zeitschr. 9, 10, 1908.

Wir dialysierten im folgenden daher unseren Speichel und die Stärkelösung während dreier Tage und wandten außerdem den Speichel in noch größerer Verdünnung, nämlich 1 : 100 als Stammlösung, an. Von dieser Lösung wurden dann 1 bis 5 ccm zu den meist 50 bis 60 ccm Flüssigkeit enthaltenden Kölbchen gesetzt. Damit dieser nunmehr aufs äußerste verdünnte Speichel noch innerhalb $^1/_2$ bis 2 Stunden zu einer sichtbaren Wirksamkeit gelangen konnte, mußten wir auch die Stärkekonzentration stark herabsetzen. Wir verdünnten daher die dialysierte, 1%ige Stärkelösung im Verhältnis 10 : 500 und füllten von dieser Lösung jedesmal 50 ccm in die einzelnen Kölbchen.

Als wir nunmehr die vorigen Versuche mit gut dialysierten Lösungen wiederholten, erhielten wir im Gegensatz zu unseren früheren Untersuchungen, aber in Übereinstimmung mit Wohlgemuth und Bang das Resultat, daß Kochsalz zwar noch immer bei weitem am stärksten förderte, daß dann aber das Nitrat in seiner Wirksamkeit folgte, während Sulfat gleich dem Acetat und beide erheblich schlechter, fast = 0, wirkten. Mehrfache Wiederholung des Versuches schloß einen zufälligen Versuchsfehler aus. Wir standen also vor der merkwürdigen Tatsache, daß zwei Substanzen ($NaCl + NaNO_3$), die jede für sich den diastatischen Prozeß förderte, sich, miteinander gemengt, in ihrer fördenden Wirkung nicht summierten, sondern schädigten. Im folgenden verzichteten wir darauf, die Reaktion durch Acetate festzulegen, da ja auch mit diesen eine ähnliche Salzkombinationswirkung in unseren bisherigen Versuchen eingetreten sein konnte. Die [H] konnte bei Verwendung der reinen Neutralsalze kaum sehr verschieden sein, sie wurde lediglich beeinflußt durch den Kohlensäuregehalt unseres destillierten Laboratoriumswassers und dieser war uns durch frühere Untersuchungen als ziemlich konstant bekannt (p_H = zirka 6,5). Außerdem aber wurden ja auch nur Versuche desselben Tages, die also mit demselben Wasser angesetzt waren, untereinander verglichen. Wenn es nun richtig war, daß der Kochsalzgehalt unserer Stärkelösung und des Speichels an unseren früheren Ergebnissen Schuld gewesen war, so mußten wir jetzt dieselben Ergebnisse erhalten, wenn wir zu unseren dialysierten Lösungen nachträglich Kochsalz in Spuren zufügten. Diese Vermutung bestätigte sich in der Tat. In den folgenden Versuchen seien jedesmal nur noch die Salzkonzentrationen angegeben.

1.

A) $^n/_{50}$-NaCl,
B) $^n/_{50}$-Na_2SO_4 + $^n/_{50\,000}$-NaCl,
C) $^n/_{50}$-$NaNO_3$ + $^n/_{50\,000}$-NaCl.

A wirkt besser als C und dieses besser als B, d. h. ein Zusatz so geringer Mengen von Kochsalz hat keinen Einfluß auf die Wirkung der anderen Salze.

2.

A) $^n/_{5000}$-NaCl,
B) $^n/_{50}$-Na_2SO_4 + $^n/_{5000}$-NaCl,
C) $^n/_{50}$-$NaNO_3$ + $^n/_{5000}$-NaCl,
D) salzfrei.

A besser als B, B besser als C, C besser als D, d. h. bei einem Gehalt von $^n/_{5000}$-NaCl hatten wir unsere früheren Ergebnisse wieder erhalten, nämlich, daß das Sulfat besser wirkte als das Nitrat. Bemerkenswert ist hierbei ferner, daß die völlig salzfreie Lösung am schlechtesten war und daß ferner die Sulfatlösung schlechter war als die Kochsalzprobe, obwohl sie die gleiche Menge Kochsalz enthielt.

3.

Die Reaktion wird durch ein Acetatgemisch von der Reaktion $1 \cdot 10^{-6}$ festgelegt.

A) $^n/_{50}$-Acetat,
B) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-NaCl,
C) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-$NaNO_3$,
D) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-Na_2SO_4.

B besser als C, C besser als D, D ungefähr gleich A, d. h. sobald die Lösungen kochsalzfrei, wirkte Nitrat wieder besser als Sulfat. Der Zusatz des Acetats als Regulator hatte hieran also nichts geändert. Das Sulfat zeigte die gleiche Wirkung wie das Acetat, resp., da die Sulfatlösung ja auch das Puffergemisch enthielt, hatte es zum mindesten dessen Wirkung nicht beeinflußt. Eine salzfreie Kontrolle war nicht angesetzt worden, da deren Reaktion eine andere gewesen wäre.

4.

A) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-NaCl + $^n/_{5000}$-NaCl,
B) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-Na_2SO_4 + $^n/_{5000}$-NaCl.
C) $^n/_{50}$-Acetat + $^n/_{50}$-$NaNO_3$ + $^n/_{5000}$-NaCl,
D) $^n/_{50}$-Acetat + 0 + $^n/_{5000}$-NaCl.

A besser als D, D gleich B, B besser als C, d. h. das frühere Resultat, wo die Salzlösung infolge der nicht dialysierten Speichel- und Stärkelösung durch Kochsalz verunreinigt war. Auch hier hatte das Acetat keinen Einfluß ausgeübt; die Reihenfolge der Salze war dieselbe wie bei den Versuchen ohne Regulatorsalz. Ebenso verhielt es sich mit den Phosphatgemischen als Regulatoren, deren Versuche hier nicht besonders aufgezählt sind, da sie gleichsinnig ausfielen.

Für die den diastatischen Prozeß beschleunigende Wirkung der drei untersuchten Salze läßt sich also, wenn man mit im übrigen salzfrei dialysierten Lösungen arbeitet, die Reihe: Chlorid, Nitrat, Sulfat aufstellen, gleichviel ob man bei der etwas undefinierten Reaktion des destillierten Wassers arbeitet oder bei einer durch ein Acetat- resp. Phosphatgemisch festgelegten Reaktion von $1 \cdot 10^{-6}$. Sind aber die Lösungen durch Spuren von Kochsalz verunreinigt, so tritt die auffallende Umkehr ein: Chlorid, Sulfat, Nitrat.

Wir untersuchten nun noch andere Salze und fanden für die Chloride, daß die mit zweiwertigem Kation (Ca und Mg), und zwar in dieser Reihenfolge, ein klein wenig besser wirkten als die mit einwertigem (Na und K), für die wir untereinander mit unserer Methode keinen sicheren Unterschied fanden. Jedoch sind die Unterschiede sehr klein, so daß sie fast innerhalb der Fehlerquellen liegen. Dem Chlorion folgt in deutlichem Abstande das Bromion, diesem das Jodion[1]). Letzteres ist in seiner Wirksamkeit fast gleich dem Nitration, dem dann erst in deutlichem Abstande das Sulfation folgt. Sobald wir mit den pufferfreien Lösungen arbeiteten, verglichen wir die Kölbchen mit den Salzlösungen jedesmal mit einer gänzlich salzfreien Stärkelösung und fanden diese jedesmal am schlechtesten, so daß wir zu dem Schlusse kamen, daß alle von uns untersuchten Salze den diastatischen Prozeß förderten, und zwar in folgender Reihenfolge:

$CaCl_2$, $MgCl_2$, $NaCl = KCl$, $NaBr$, $NaJ \geqq NaNO_3$, Na_2SO_4[2]).

Nur sei noch einmal hervorgehoben, daß es sich keinesfalls um eine auch nur halbwegs gleichmäßig abgestufte Reihe handelt, vielmehr nehmen die Chloride eine ganz souveräne Stellung ein, der Einfluß des Broms ist auch ziemlich groß, der der anderen Salze sehr gering, vor allem übt das Sulfat nur eine ganz minimale Wirkung aus. Es ist also unmöglich, die

[1]) Da das Jodnatrium resp. -kalium die Färbung einer Jodstärkelösung beeinflußt, so muß man, wenn man das Salz in der von uns geübten Technik untersuchen will, zu jedem der mit anderen Salzlösungen beschickten Kölbchen nach dem Jodzusatze eine dem Jodnatriumkölbchen entsprechende Menge von Jodnatrium hinzufügen.

[2]) Diese Reihenfolge deckt sich mit den Beobachtungen der anderen zitierten Autoren.

ganze Reihe in ihren Abstufungen in einem einzigen Versuche zu erkennen, denn wenn wir den Prozeß durch Jod zu einer Zeit unterbrechen, wo wir Unterschiede in den Chloriden und im Brom wahrnehmen können, dann sind das Jod, Nitrat, Sulfat und die salzfreie Lösung noch tiefblau, und umgekehrt, wenn wir den Prozeß erst später abbrechen, so daß hier die Unterschiede deutlich sind, so ist bei sämtlichen Chloriden und meist auch beim Brom die ganze Stärke schon abgebaut.

Die salzfreien Lösungen fanden wir niemals absolut wirkungslos, wenn auch ihre Wirksamkeit eine nur unvergleichlich langsame war, und wir können es als ziemlich sicher betrachten, daß dieser letzte Rest von Wirkung auf den allerletzten, bei der Dialyse nicht entfernten Salzspuren beruht. Was das Sulfat anbetrifft, so hatte Bierry es für die dialysierte Pankreasdiastase gänzlich unwirksam als Aktivator gefunden. Wir fanden stets, wie auch Bang, eine geringe Beschleunigung gegenüber der salzfreien Lösung. Doch die Wirkung des Sulfats war nur deutlich erkennbar, wenn wir mit stark verdünnter Stärke arbeiteten, da andernfalls die Lösung nach dem Jodzusatze selbst nach mehrstündigem Stehen noch blau war. Die ersten Spuren von Dextrin werden eben durch die Farbe einer größeren Menge von unverdauter Stärke überdeckt. Erwähnen wollen wir ferner noch, daß wir auch für die Wirkung des Sulfats keinen deutlichen Unterschied fanden, gleichviel ob wir es in einer Konzentration von $^n/_{150}$, $^n/_{50}$ oder $^n/_{10}$ anwandten. Reduktionsmethoden mögen hier genauere Resultate liefern, doch kam es uns auf feinste quantitative Unterschiede bei unserer Fragestellung ebensowenig an, wie etwa auf genau zahlenmäßig angegebene Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Salze.

Da der Speichel Rhodankali enthält, so lag die Vermutung nahe, daß dieses vielleicht einen besonders großen, eventuell das Kochsalz noch übertreffenden Einfluß ausüben würde. Da sich jedoch das Jod mit dem Rhodankalium chemisch umsetzt, so entfärbt sich die Speichellösung sehr schnell, so daß wir mit unserer Methode dem Rhodankali keinen sicheren Platz in der Reihe anweisen konnten; nur so viel ließ sich aus der im ersten Augenblicke entstehenden Färbung ersehen, daß die Wirkung des Rhodanions an die des Chlorions bei weitem nicht heranreichte.

Einwirkung von Salzgemischen.

Was nun die Stellung der Acetate und Phosphate anbetrifft, so glauben wir, sie bei den Sulfaten einreihen zu können, denn in allen Reihen, die mit diesen Puffergemischen angesetzt waren, war die Wirkung des Sulfates + dem Puffer gleich der Wirkung des Puffers allein, gleichgültig, ob die molare Konzentration des Sulfats oder die des Puffers überwog. Ferner zeigte eine Phosphat-Stärkelösung von der Reaktion $1 \cdot 10^{-7}$ annähernd die gleiche Färbung wie eine salzfreie Stärkelösung, die vor dem Versuche noch einmal aufgekocht worden war, um sie von ihrem Kohlensäuregehalt zu befreien, und die also auch annähernd neutrale Reaktion (ca. $1 \cdot 10^{-7}$) haben mußte. Beide Lösungen waren rot, die Phosphatlösung mit einem ganz leichten Stich mehr ins Gelbe. Danach üben also auch die Phosphate und mithin die in ihrer Wirkung gleichen Acetate eine minimale Beschleunigung aus, was mit dem Befunde Ringers (l. c.) in Widerspruch stehen würde, der ja eine Hemmung gegenüber salzfreier Lösung gefunden hatte. Wir glauben jedoch diesen Widerspruch durch folgenden Versuch aufklären zu können:

A) $^n/_{5000}$-NaCl,
B) $^n/_{50}$-Na_2SO_4 + $^n/_{5000}$-NaCl,
C) $^n/_{50}$-Na_2SO_4.

Es wirkte A besser als B und B besser als C, d. h. wenn wir zwei Salze mischen und dann einwirken lassen, so addieren sich nicht ihre Wirkungen, wie ja auch schon weiter oben gezeigt war, sondern es entsteht eine mittlere Geschwindigkeit, die derjenigen Geschwindigkeit näher liegt, die dem konzentrierter angewandten Salze zukommt. Stehen nun die beiden Salze in der vorher angeführten Reihe so weit auseinander, d. h. sind ihre Wirkungen so verschieden wie beim Kochsalz und Natriumsulfat, so kommt es, daß solche Spuren des einen Salzes ($^n/_{5000}$-NaCl) noch immer besser wirken als die konzentriertere Lösung des anderen + der im Verhältnis verschwindend kleinen Menge des ersteren Salzes ($^n/_{50}$-Na_2SO_4 + $^n/_{5000}$-NaCl). In unserem speziellen Falle also ist die Beschleunigung durch Spuren von Chlorid noch immer größer als die Beschleunigung durch das bedeutend konzentriertere (jedoch nicht etwa

in schädigender Konzentration) angewandte Sulfat und mithin auch größer als eine mittlere Geschwindigkeit beider bei ihrer Mischung. Anders wenn wir zwei ziemlich nahe stehende Salze miteinander vergleichen wie NaCl und NaBr. Hier wirkt $^n/_{50}$-NaBr + $^n/_{5000}$-NaCl besser als $^n/_{5000}$-NaCl allein, da eben $^n/_{50}$-NaBr bereits besser wirkt als $^n/_{5000}$-NaCl. Dieselben Verhältnisse wie beim Sulfate erhalten wir hier bei einem anderen Mischungsverhältnisse. $^n/_{50}$-NaCl wirkt besser als $^n/_{50}$-NaBr + $^n/_{50}$-NaCl und dieses wieder besser als $^n/_{50}$-NaBr allein, weil hier $^n/_{50}$-NaCl besser wirkt als $^n/_{50}$-NaBr. Um auf die Ringerschen Untersuchungen zurückzukommen, so lagen bei ihm die Verhältnisse so wie bei unserem Sulfatversuche, da erstens auch den Phosphaten nur eine ganz minimale Beschleunigung zukommt und andererseits seine Lösungen sicher Kochsalz enthielten, da er sie vorher nicht dialysierte. Graphisch glauben wir diese Verhältnisse in schematischer Weise durch folgendes Koordinatensystem darstellen zu können, bei dem auf der Abszisse die Salzkonzentrationen, auf der Ordinate die Wirkungsgeschwindigkeit, nach irgendeinem empirischen Maßstabe gemessen, eingetragen sind. (Fig. 1.)

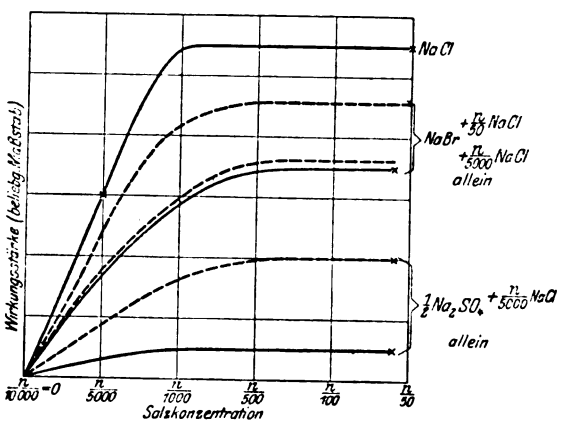


Fig. 1.

Wir sehen aus dieser schematischen Darstellung, wie die Ordinate, die zu einer Kochsalzkonzentration von $^n/_{5000}$ gehört, größer ist, sowohl wie die Ordinate von $^n/_{50}$-Sulfat allein, als auch wie die von $^n/_{50}$-Sulfat + $^n/_{5000}$-NaCl. Andererseits ist sie kleiner als die Ordinate für $^n/_{50}$-Brom + $^n/_{5000}$-NaCl. Die

Ordinate jedoch, die zu einer Kochsalzkonzentration von $^n/_{50}$ gehört, ist wiederum größer als die Ordinaten von $^n/_{50}$-Brom und $^n/_{50}$-Brom + $^n/_{50}$-Kochsalz.

Eine einzige Ausnahme schien das Nitrat zu bilden, bei dem es den Anschein hatte, als ob seine Wirksamkeit durch Kochsalzbeimengung verschlechtert würde, denn das Nitrat trat bei den Versuchen mit Kochsalzbeimengung an das Ende der vorhin angeführten Salzreihe und wirkte sogar erheblich schlechter als das Sulfat, während es sonst vor diesem stand. Folgender Versuch belehrte uns jedoch darüber, daß auch das Nitrat durch Kochsalz in seiner Wirkung verbessert wurde, nur in viel geringerem Maße als die anderen Salze.

A) 1. $^n/_{25}$-$NaNO_3$,
2. $^n/_{25}$-$NaNO_3$ + $^n/_{100}$ NaCl,
3. $^n/_{25}$-$NaNO_3$ + $^n/_{50}$-NaCl.

B) 1. $^n/_{25}$-Na_2SO_4,
2. $^n/_{25}$-Na_2SO_4 + $^n/_{100}$-NaCl,
3. $^n/_{25}$-Na_2SO_4 + $^n/_{50}$-NaCl.

In der Reihe A hatte der Zusatz von Kochsalz sehr wenig an der Nitratwirkung geändert, so daß hier 1 gleich 2 und 3 nur wenig besser als diese war. Anders in der Reihe B. In dieser war 3 wesentlich besser als 2 und dieses wesentlich besser als 1, d. h. das Sulfat wurde durch Kochsalz erheblich in seiner Wirksamkeit gefördert. Beide Reihen untereinander verglichen, zeigte das reine Nitrat zwar bessere Wirkung als das reine Sulfat, Sulfat + Kochsalz aber war erheblich besser als Nitrat + Kochsalz, und zwar so viel, daß selbst B_2 mit dem geringen Kochsalzzusatz noch besser war als A_3 mit der doppelten Kochsalzmenge.

Wie das Sulfat verhielten sich auch Acetat und Phosphat.

Der Ausfall dieser Versuche gab uns die Erklärung für die veränderte Stellung des Nitrats in der Salzwirkungsreihe, wenn wir mit nicht dialysierten Lösungen, resp. mit absichtlicher Kochsalzbeimengung gearbeitet hatten. Nehmen wir, wie es auch schon Bang für das Kochsalz und das Phosphat tat, an, daß die Diastase sich mit Salzen überhaupt zu einer wirksamen Salzdiastaseverbindung vereinigt, so sagt uns der letzte Versuch, daß die Affinitäten der einzelnen Salze zur Dia-

stase verschieden groß sind, und zwar kommt dem Nitrat eine besonders große Affinität zu, so daß, wenn wir Kochsalz hinzufügen, nur verhältnismäßig wenig von der stark diastatisch wirksamen Kochsalzverbindung entsteht, und wir fast die reine, viel schwächere Nitratdiastasewirkung behalten. Dem Sulfat aber kommt eine nur geringe Affinität zu. Setzen wir daher zu einer sulfathaltigen Lösung Kochsalz auch nur in Spuren zu, so wird doch ein Teil desselben zur Bildung der stark wirksamen Kochsalzdiastaseverbindung verwandt. Daß nicht das gesamte Kochsalz zur Bindung kommt, geht daraus hervor, daß bei diesen Salzgemischen eine mittlere Geschwindigkeit entsteht, die einerseits abhängig ist von der Konzentration und der Affinität der Salze (von beiden Faktoren hängt die Menge der entstehenden Salzdiastaseverbindungen ab), andererseits abhängig von der jeder Salzdiastaseverbindung zukommenden Wirksamkeit. Man sieht hieraus, wie vorsichtig man in der Beurteilung genauer quantitativer Unterschiede der einzelnen Salzwirkungen sein muß, denn die geringste Verunreinigung mit Chlorionen vermag die Verhältnisse zu verschieben.

Reaktionsoptimum bei Gegenwart verschiedener Salze.

Da Ringer in seinen Versuchen eine Verschiebung der optimalen Reaktion durch Citrate gefunden hatte, so untersuchten wir daraufhin auch andere Salze. Die Reaktion wurde durch Phosphatgemische festgelegt, deren Konzentration $^n/_{150}$ in bezug auf Phosphorsäure betrug. Die Konzentration der zu untersuchenden Salze betrug $^n/_{25}$, war also so stark, daß das Regulatorsalz als solches nach dem vorhin Ausgeführten nur eine verschwindend kleine Rolle spielen konnte.

A. Das H-Ionenoptimum unter Phosphateinfluß.

(Konzentration des Phosphats $^n/_{50}$.)

1. Das Optimum (wieder aus der Farbnuance der Jodstärkeverbindung bestimmt) liegt bei $p_H = 6{,}22$ und 6,36; 6,04 und 6,54 sind bereits etwas schlechter.

2. Das Optimum reicht von 6,03 bis 6,27.

3. Das Optimum reicht von 6,01 bis 6,20, d. h. die vorangehenden und folgenden Kölbchen sind bereits schlechter, während die Kölbchen innerhalb der angeführten Zahlen gleiche Farbnuance zeigen.

B. Das H-Ionenoptimum unter Acetateinfluß.

(Konzentration des Acetats $^n/_{50}$.)

1. Das Optimum reicht von $p_H = 6{,}02$ bis 6,40; 5,80 und 6,62 sind deutlich schlechter. Im Optimumbereich scheint 6,22 am besten zu sein.

(Konzentration des Acetats $^n/_{15}$.)

2. Das Optimum reicht von 6,13 bis 6,29; 6,04 und 6,44 deutlich schlechter.

3. Das Optimum reicht von 6,19 bis 6,36; 5,96 und 6,72 deutlich schlechter.

4. 6,00 und 6,50 zeigen schlechtere Wirkung als die dazwischen liegenden Kölbchen.

C. Das H-Ionenoptimum unter Kochsalzeinfluß.

1. Das Optimum reicht von 6,59 bis 6,78.

2. Das Optimum reicht von 6,60 bis 6,81; 6,50 und 6,94 deutlich schlechter.

3. Das Optimum liegt zwischen 6,26 und 7,18, so daß die mittleren Reaktionen besser sind. Optimum anscheinend bei 6,81.

D. Das H-Ionenoptimum unter Sulfateinfluß.

1. Das Optimum reicht von 6,11 bis 6,33; vorhergehende und nachfolgende Kölbchen sind schlechter.

2. Das Optimum liegt zwischen 6,0 und 6,4, so daß die zwischen liegenden Kölbchen besser sind.

3. Das Optimum liegt bei 6,24.

E. Das H-Ionenoptimum unter Nitrateinfluß.

1. Das Optimum liegt zwischen 6,45 und 7,28 bei 6,83.
2. Das Optimum liegt zwischen 6,68 und 7,19 bei 6,86.
3. Das Optimum liegt zwischen 6,79 und 7,26.
4. Das Optimum reicht von 6,88 bis 7,16.

F. Das H-Ionenoptimum unter Bromideinfluß.

1. Das Optimum liegt zwischen 6,49 und 6,82 bei 6,62.
2. Das Optimum liegt bei 6,74.
3. Das Optimum reicht von 6,65 bis 6,75.

Genauer ließ sich bei der angewandten Methode das Optimum der einzelnen Salze nicht einengen, doch geht aus den Versuchen deutlich hervor, daß den einzelnen Salzen, resp. einzelnen Salzgruppen eine verschiedene optimale Wirkungsreaktion zukommt. Schätzen wir die optimale Reaktion aus den Mittelwerten, so erhalten wir folgendes Bild: Phosphat, Acetat und Sulfat haben ihre optimale Wirksamkeit bei 18° bei einer Reaktion von ungefähr $p_H = 6{,}1$ bis 6,2; Bromid und Chlorid bei ungefähr 6,7 und Nitrat bei ungefähr 6,9.

Wir sehen also, daß die Salze, die geringe Affinität zur Diastase haben und deren Salzdiastasewirkung nur schwach ist, auch annähernd dasselbe Reaktionsoptimum haben.

Die in ihrer starken Wirksamkeit ähnlichsten Salze, die Chloride und Bromide, haben ebenfalls ein nahegelegenes oder identisches Reaktionsoptimum. Dieses ist wiederum verschieden von dem des Nitrates, das ja in bezug auf seine Affinität und Wirksamkeit von der ersten und zweiten Gruppe auch wieder verschieden ist.

Auffallend schien es uns, daß der Speichel, von dem fast allgemein angenommen wird, daß er stärker alkalisch sei, nur bei schwach saurer Reaktion wirksam war, im alkalischen Gebiete aber sehr schnell in seiner Wirksamkeit abnahm. Wir bestimmten daher die Reaktion verschiedener Speichellösungen, gleich nachdem sie gewonnen waren, und fanden dabei folgende Reaktionen bei 18°:

1. $p_H = 6{,}79$ 2. $p_H = 6{,}91$ 3. $p_H = 6{,}92$	unverdünnter Speichel.	4. $p_H = 6{,}65$ 5. $p_H = 6{,}34$ 6. $p_H = 7{,}01$	10% Speichel (4 und 5 mit gewöhnlichem, 6 mit frisch ausgekochtem dest. Wasser verdünnt).

Da die neutrale Reaktion bei 7,07 (18°) liegt, so ist also der Speichel leicht sauer. Da er trotz 10facher Verdünnung mit unserem gewöhnlichen, also etwas kohlensäurehaltigen Wasser verdünnt, seine Reaktion nicht wesentlich änderte, so folgt gleichzeitig aus unseren Messungen, daß er über einen ziemlich konzentrierten Gehalt an Puffersalzen (vermutlich Carbonate und Phosphate) verfügen muß.

Hierauf verglichen wir noch einmal die Beschleunigung durch die Salze, jedoch so, daß jedes bei seiner optimalen Reaktion zur Wirkung kam, und erhielten auch hier, wie zu erwarten war, die oben angeführte Reihe. Denn wenn die Chloride, Bromide und Nitrate in der für sie bereits ungünstigeren Reaktion von $1 \cdot 10^{-6}$ den Phosphaten, Acetat und Sulfat, für die diese Reaktion beinahe optimal war, überlegen gewesen waren, so mußten sie es jetzt um so mehr sein. Anders lagen die Verhältnisse bei noch saurerer Reaktion. Bei 4,7 war die Wirkung des Nitrates schon fast gleich Null, während das Acetat noch ungefähr $^1/_{10}$ seiner optimalen Wirksamkeit zeigte. Veranschaulicht werden diese Verhältnisse durch die folgenden

beiden Kurven, die die Wirksamkeit der Diastase abhängig von der H-Ionenkonzentration bei Gegenwart von Acetat und Nitrat zeigen. An die Ordinaten beider Kurven ist jedoch nicht derselbe Maßstab zu legen, da das Nitrat in seinem Optimum, ja selbst noch bei $p_H = 6{,}0$ besser als das Acetat wirkt.

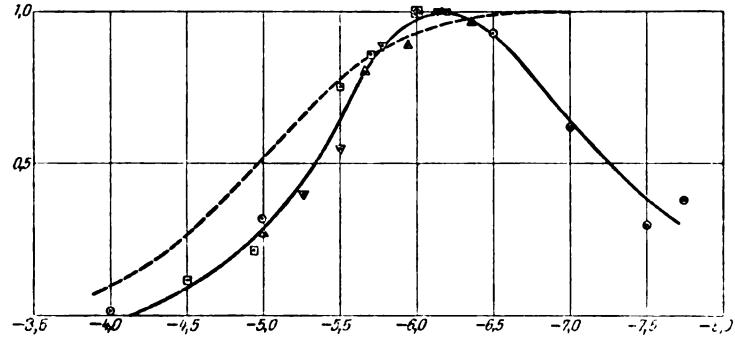


Fig. 2.

Abhängigkeit der Acetat-Diastase-Wirkung von der Wasserstoffionenkonz. Abszisse: log [H·]. Ordinate: relative Wirksamkeit (reziproke Zeiten gleicher Umsätze). Kurve — stellt nur die graphische Verbindung der beobachteten Punkte dar. Kurve — stellt eine theoretische Dissoziationskurve dar, die sich den um das Optimum herum gelegenen zahlreichen Beobachtungspunkten anpassen würde; man sieht, daß die übrigen Punkte sich derselben auf keine Weise, auch nicht durch horizontale Verschiebungen der Kurve, anpassen ließen. Die Wirkungskurve ist also keine einfache Dissoziationskurve. Acetatgemische.

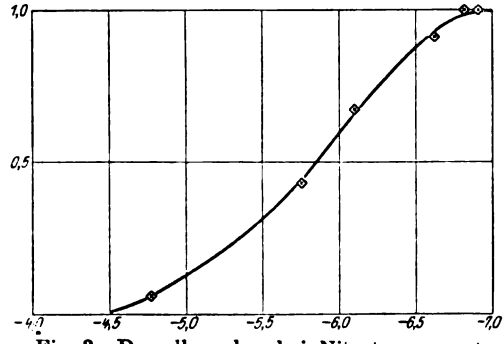


Fig. 3. Dasselbe, aber bei Nitratgegenwart.

Gewonnen wurden diese Kurven auf folgende Weise. Aus dem Kölbchen mit optimaler Reaktion werden nach Zusatz des Speichels alle Minuten 5 ccm entnommen und mit genau 5 ccm

der Jodlösung im Reagensglase vermischt, wodurch eine genau abgestufte Farbenskala vom Blau bis zum Gelb entsteht, bei der jeder Farbennuance ein bestimmter Zeitwert zukommt. Hierauf geschieht dasselbe mit den Kölbchen mit ungünstigerer Reaktion, nur daß die Zwischenräume der Entnahmezeiten um so größer gemacht werden, je weiter man sich vom Optimum entfernt. Jede Entnahmezeit wird genau notiert, die Farbnuance des betreffenden Röhrchens mit einem Röhrchen des Optimums verglichen und dann aus den verschiedenen Zeitwerten der Röhrchen von der gleichen Farbnuance die Geschwindigkeit im Vergleich zum Optimum berechnet, dessen Wirksamkeit gleich 1 gesetzt wird. Für die Nitratkurve mußte natürlich ein Phosphatgemisch zur jeweiligen Festlegung der Reaktion zugesetzt werden, und es befanden sich hier also zwei Salze in der Lösung. Letzteres war jedoch an Konzentration gegenüber ersterem verschwindend gering, und außerdem hatten ja frühere Versuche gezeigt, daß durch die Phosphat- und Acetatpuffer die Wirksamkeit der anderen Salze nicht sichtbar beeinflußt wird, weil angenehmerweise gerade die Acetat- und Phosphationen eine sehr geringe Affinität zur Diastase haben. Wir sind uns ferner bewußt, daß das Verfahren namentlich in der Nähe des Optimums große Fehler besitzt, doch gibt es ein annäherndes Bild des diastatischen Prozesses, abhängig von der H- und Salzionenkonzentration. Eine Kurve nur abhängig von der H-Ionenkonzentration zu gewinnen, war bei der Diastase infolge des großen Salzeinflusses nicht möglich. Man konnte kein Puffergemisch in so verdünnter Konzentration anwenden, daß man die H-Ionen durch dasselbe hätte definieren und gleichzeitig seine Salzwirkung hätte vernachlässigen können. Die Form der Kurven deckt sich auch nicht ganz mit der reiner Dissoziationskurven, sondern verläuft etwas steiler (in die Acetatkurve ist eine theoretische Dissoziationskurve mit einer Dissoziationskonstante, deren Logarithmus — 4,96 beträgt, zum Vergleiche eingezeichnet). Der Abbau der Stärke hängt eben einerseits von der bei verschiedener H-Ionenkonzentration verschieden großen Dissoziation der Salzdiastaseverbindung ab, die Bildung dieser selbst aber ist andererseits auch eine Funktion der H-Ionen. Der steilere Anstieg der Wirkungskurve, oder was dasselbe ist, die theoretisch zu geringe Wirksamkeit

bei saurer Reaktion, hat also darin seinen Grund, daß bei dieser Reaktion weniger wirksame Salzdiastasemoleküle gebildet worden sind. Da wir die Salzdiastaseverbindungen und nicht die Diastase allein und nur durch Salze verschieden beeinflußt als das wirksame Agens ansehen, so erhalten wir hierdurch auch eine Erklärung für die verschiedenen optimalen Reaktionen bei Zusatz der verschiedenen Salze. Es entstehen eben zwar chemisch sehr nahestehende, aber doch etwas differente Körper mit verschieden großen Dissoziationskonstanten und verschieden großer Wirksamkeit gegen Stärke.

Der isoelektrische Punkt.

Obwohl es uns nicht gelungen war, für die Diastase eine Dissoziationskurve unabhängig von der Wirkung anderer Ionen zu gewinnen, versuchten wir dennoch, uns über die Lage des isoelektrischen Punktes zu orientieren. Bezüglich der allgemeinen Versuchsanordnung verweisen wir besonders auf die Arbeit von Michaelis und Davidsohn[1]). Zur Untersuchung verwandten wir eine $10^0/_0$ige Speichellösung, deren H-Ionenkonzentration durch Acetatgemische in der Weise festgelegt wurde, daß die Konzentration an Acetat $^n/_{50}$ betrug. Das Mittelgefäß enthielt diese Lösung in ungekochtem, die Seitengefäße in gekochtem Zustande. Die Dauer der Versuche betrug 3 bis 4 Stunden. Eine längere Einwirkung war nicht ratsam, da sich dann trotz der angewandten unpolarisierbaren Elektroden die Reaktion in den Seitengefäßen merklich änderte. Bei kürzerer Versuchszeit erhielten wir keine einwandfreien Resultate. Gänzlich salzfreie Diastase wandern zu lassen, war auch hier unmöglich, da ja ein Ampholyt bei verschiedener Reaktion nach verschiedener Richtung wandert, wenn diese Reaktionen einmal diesseits, das andere Mal jenseits des isoelektischen Punktes liegen. Es muß also die H-Ionenkonzentration jedesmal durch ein Salzpuffergemisch festgelegt werden. In unseren Versuchen kam also die Acetatdiastase zur Wanderung. Da die Dissoziationskonstanten der einzelnen Salzdiastaseverbindungen dicht beieinander liegen, so gilt das gleiche auch vom isoelektrischen Punkte. Die Wanderungsrichtung der Diastase wurde dadurch festgestellt,

[1]) Diese Zeitschr. 30, 481, 1911.

daß wir nach Ablauf des Versuches zu jeder Seitenlösung 1 ccm 1%ige Stärke hinzufügten und nun in bestimmten Zeitintervallen Proben aus der Flüssigkeit entnahmen und durch Jodzusatz feststellten, auf welcher Seite ein Abbau der Stärke eingetreten war. Die Versuche wurden stets doppelt angesetzt und das Resultat nur bei Übereinstimmung beider verwandt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle.

Nummer des Versuchs	Elektrometrische Messung der H-Ionenkonzentration $p_H =$	Wanderungsrichtung	
		anodisch	kathodisch
1	4,06	−	+
2	4,60	−	+
3	5,00	−	+
4	5,30	(+)	+
5	5,31	(+)	+
6	5,56	(+)	(+)
7	5,57	(+)	+
8	5,60	+	+
9	5,87	+	(+)
10	6,00	+	(+)
11	6,00	+	−
12	6,36	+	(+)
13	6,42	+	−
14	6,60	+	−
15	6,64	+	−
16	6,90	+	−

Die beiden letzten Versuche wurden durch Phosphatgemische reguliert. Wir können den isoelektrischen Punkt also mit Sicherheit zwischen $p_H = 6{,}0$ und $p_H = 5{,}0$ einengen. In den dazwischen liegenden Gebieten trat ein Abbau der Stärke stets beiderseitig ein, jedoch meist so, daß die eine Seite überwog. Da aber das Verfahren kein genau quantitatives Vergleichen zuläßt und innerhalb des erwähnten Bereiches auch eine Anzahl von Versuchen vorkamen, in denen die Ergebnisse der beiden Parallelversuche nicht übereinstimmten, so wollen wir die Grenzen für den isoelektrischen Punkt so weit lassen. Außerhalb derselben haben wir jedenfalls nur eindeutige Wanderungen erhalten.

Wir versuchten nun, ob das Nitrat, dessen Wirkungsoptimum ja am weitesten nach der Seite der kleineren H-Ionenkonzentration verschoben ist, vielleicht auch eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes

in demselben Sinne erkennen lassen würde, kamen aber zu keinem abschließenden Resultate. Die Konzentration an Nitrat mußte ziemlich hoch gewählt werden, damit es den eventuellen Einfluß des Regulatorsalzes überwog, dadurch aber wurde die Lösung so salzreich und mithin der elektrische Strom so stark, daß jedesmal eine erhebliche Reaktionsänderung in den Seitengefäßen während der Versuchsdauer eintrat, zumal diese gerade in der Nähe des isoelektrischen Punktes wegen der geringen Wanderung der Diastase sehr lang gewählt werden mußte. Die Protokolle sind wegen der nicht einwandfreien Resultate hier nicht angeführt, doch ließ sich immerhin aus ihnen ersehen, daß es sich um eine wesentliche Verschiebung des isoelektrischen Punktes nicht handeln konnte.

Da also der isoelektrische Punkt der Diastasesalzverbindungen zwischen $p_H = 5{,}0$ und 6,0, das Wirkungsoptimum aller daraufhin untersuchten Diastasesalzverbindungen bei höheren Werten als 6,0 liegt, so läßt sich von diesen Verbindungen sagen, daß nur ihre Anionen wirksam sind.

Resultate.

1. Bei völliger Abwesenheit von Salzen ist die Diastase unwirksam.

2. Die Diastase verbindet sich mit allen möglichen Salzen zu Doppelverbindungen, von denen jede einzelne ganz charakteristische Eigenschaften hat. Für diese Eigenschaft ist das Anion des betreffenden Salzes maßgebend, das Kation nicht oder kaum. Jede dieser komplexen Verbindungen hat diastatische Wirkung, aber sie unterscheiden sich voneinander

a) durch die Affinität des Salzes (bzw. Anions) zur Diastase und daher durch die Vollständigkeit, mit der die Bindung der Diastase an das betreffende Anion ceteris paribus eintritt;

b) durch die Größe ihrer Wirksamkeit auf Stärke, oder wie wir statt dessen wahrscheinlich ebensogut sagen können, durch die Affinität der komplexen Salzdiastaseverbindung zur Stärke;

c) durch ihre Säuredissoziationskonstanten und damit gleichzeitig durch die Lage ihres isoelektrischen Punktes, und dadurch zugleich durch die [H·] ihres Wirkungsoptimums auf Stärke. Wirksam sind diese komplexen Diastaseverbindungen nur in Form ihrer Anionen.

Zu a) seien folgende halbquantitative Angaben gemacht:

Bezüglich der Affinität der Diastase zu den verschiedenen Anionen können wir drei Gruppen unterscheiden:

1. Nitrat mit sehr großer Affinität,
2. Chlorid, Bromid mit großer Affinität,
3. Sulfat, Acetat, Phosphat mit ganz geringer Affinität.

In Salzgemischen tritt nach dem Massenwirkungsgesetz unter Berücksichtigung der verschieden hohen Affinitäten und der Konzentrationen der verschiedenen Salze eine Verteilung der Diastase unter die verschiedenen Salzarten bzw. Anionenarten ein.

Zu b). Die Wirksamkeit der einzelnen Komplexverbindungen nimmt ab in der Reihenfolge:

1. Chlorid, Bromid,
2. Jodid, Nitrat,
3. Sulfat, Acetat, Phosphat.

Zu c). Der isoelektrische Punkt aller Salz-Diastasekomplexe liegt zwischen 10^{-5} und 10^{-6}. Da es praktisch kaum durchführbar ist, Überführungsversuche mit völlig voneinander isolierten, einzelnen dieser Komplexverbindungen vorzunehmen, so erklärt sich die Unmöglichkeit, einen isoelektrischen Punkt mit der bei anderen Fermenten möglichen Genauigkeit zu bestimmen. Das Wirkungsoptimum liegt für die einzelnen Komplexverbindungen bei

Phosphat, Acetat, Sulfat	Chlorid, Bromid	Nitrat
$p_H = 6{,}1$ bis $6{,}2$	6,7	6,9

d) Es ergibt sich ferner empirisch folgende Regel. Je kleiner die Affinität eines Anions zur Diastase ist, bei um so saurerer Reaktion liegt das Wirkungsoptimum seiner Diastasekomplexverbindung. Der innere Sinn dieser Regel ist uns nicht bekannt, und es läßt sich nicht mit Bestimmtheit voraussehen, ob diese Regel auch bei allen anderen, nicht untersuchten Anionarten zutreffen wird.

e) Man hüte sich aber vor einer dem Unbefangenen naheliegenden Auffassung, die sich aussprechen ließe: je größer die Affinität eines Anions zur Diastase sei, um so größer sei die Wirksamkeit seiner Diastase-Komplexverbindung; im Gegenteil, z. B. die beiden Anionen mit fast gleicher, extrem hoher

Affinität zur Diastase: NO_3' und Cl', erzeugen mit Diastase Komplexverbindungen von sehr verschiedener Wirksamkeit [Cl-Komplex extrem stark wirksam, Nitratkomplex (trotz der noch höheren Affinität des Nitrations) viel weniger wirksam].

Mit Hilfe der entwickelten Anschauungen ist es möglich, alle Erscheinungen der Diastasewirkung qualitativ oder halbquantitativ vorauszusagen; eine streng quantitative Beherrschung der Erscheinungen hätte die unermeßliche, wenn auch prinzipiell auf Grund der entwickelten Anschauungen durchaus ausführbare Arbeit der quantitativen Bestimmungen der einzelnen Affinitäten zwischen Diastase und jedem einzelnen Salzanion, sowie zwischen Stärke und jedem einzelnen Diastase-Salzkomplex zur Voraussetzung.

Obwohl es anfangs den Anschein gehabt hatte, als ob infolge des großen Einflusses anderer Ionen als der H-Ionen die für andere Fermente gültigen Anschauungen für die Diastase nicht durchführbar sein würden, so glauben wir nunmehr doch gezeigt zu haben, daß auch die Diastase denselben Regeln folgt. Ein Unterschied besteht nur in folgendem: Die anderen bisher in dieser Weise untersuchten Fermente (Invertase, Trypsin, Lipase, Katalase und Erepsin) sind für sich allein wirksam. Ihre Wirksamkeit hängt daher infolge verschiedener Dissoziationsverhältnisse bei verschiedener Reaktion lediglich von der H-Ionenkonzentration ab, und die Neutralsalze vermögen die Wirksamkeit nur bei größerer Konzentration zu beeinflussen, indem sie in unbedeutendem Grade teils fördern oder zumeist schwächen, niemals aber die optimale Reaktion ändern. Die Diastase hingegen ist für sich allein unwirksam. Erst in chemischer Bindung mit Salzen oder deren Anionen bildet sie ein wirksames Ferment. Darauf beruht der große Einfluß anderer Ionen, selbst in den geringsten Mengen. Die Salz-Diastaseverbindungen aber folgen den Regeln über den Zusammenhang von Wirksamkeit und Dissoziation abhängig von der H-Ionenkonzentration genau so wie die anderen Fermente, die für sich allein wirksam sind.

Zur Kenntnis der Esterase des Blutes.

V. Mitteilung[1]).

Von

P. Rona und Z. Bien.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 10. Dezember 1913.)

Mit 11 Figuren im Text.

Die hemmende Wirkung stärker saurer Reaktion auf tierische Lipasen bzw. Esterasen[2]) ist allgemein bekannt. Für die Esterase des Blutes konnten orientierende Versuche von Rona[3]) zeigen, daß eine Reaktion von $[H^{\cdot}] =$ ca. 10^{-6} die Geschwindigkeit der Spaltung schon merklich beeinflußt, eine solche von ca. 10^{-5} sie schon um mehr als die Hälfte der optimalen Geschwindigkeit herabsetzt. Da eine genaue Kenntnis des Einflusses, den die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration auf die Wirkung dieses Ferments hat, erwünscht ist, schon aus dem Grunde, weil auf diesem Wege noch am ehesten die Trennung der verschiedenen Lipasen bzw. Esterasen durchgeführt werden kann, so haben wir systematisch die Wirkungsbedingungen der Blutesterase in bezug auf die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration des Mediums untersucht.

---

[1]) I. Mitteilung: P. Rona und L. Michaelis, diese Zeitschr. **31**, 435, 1911; II. Mitteilung: P. Rona, ebenda **33**, 413, 1911; III. Mitteilung: E. Abderhalden und P. Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 30, 1911; IV. Mitteilung: P. Rona und J. Ebsen, diese Zeitschr. **39**, 21, 1912.

[2]) In der 3. Auflage der „Fermente" von Oppenheimer ist die frühere Trennung zwischen Lipasen und tierischen Esterasen fallen gelassen, da ein scharfer Unterschied zwischen beiden Gruppen nicht vorhanden ist. Wollte man an einer Trennung festhalten, so könnte man sagen, daß die Esterasen im homogenen, die Lipasen im heterogenen System ihre Wirkung entfalten.

[3]) l. c. **33**, 413, 1911.

Angewendet wurden stets Blutsera von Kaninchen in 10facher Verdünnung; als Substrat diente gesättigte wässerige Lösung von Tributyrin, als Reaktionsregulator Phosphatgemische von der in den Tabellen näher angegebenen Zusammensetzung. Wenn nicht anders angegeben, wurden zu je 30 ccm gesättigter wässeriger Tributyrinlösung jedesmal 1 ccm 10fach verdünntes Blutserum hinzugefügt und dann noch 3 ccm des Regulators, so daß das Gemisch in bezug auf das Phosphat $^1/_{80}$ molar war. Die Spaltung wurde bei Zimmertemperatur (18°) beobachtet.

Bei den alkalischeren Reaktionen, etwa von $p_H = 8$ an, wurden stets Kontrollversuche mit aufgekochtem Serum angesetzt, um eine eventuelle „Alkalispaltung" und deren Umfang festzustellen. In den Figuren sind die diesen Kontrollversuchen entsprechenden Kurven mit *C* bezeichnet. Zur Registrierung der Tropfenzahl erwies sich folgendes Verfahren als ganz praktisch. Ein Holzbrett wird mit Linoleum bespannt, das durch parallele, mit Blaustift gezeichnete Linien in gleichgroße Quadrate von etwa $1^1/_2$ cm Seitenlänge geteilt wird. Während des Tropfens wird das Brett in langsamem, gleichmäßigem Tempo unter der Kapillare weggezogen, so daß in jedes Quadrat ein Tropfen zu liegen kommt. Zum Schluß liegen sämtliche Tropfen auf der Linoleumfläche und ihre Zahl kann mit einem Blick festgestellt werden.

Der Verlauf der einzelnen Versuche ist in den folgenden Tabellen wiedergegeben.

Tabelle I.

Versuch		Regulatorgemisch	$[H^·]$ elektrometrisch gemessen	p_H	Tropfenzahl nach Minuten				Vorhandenes Tributyrin in % nach Minuten			
					0	12	24	48	0	12	24	48
I[1])	1	1 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}3 \cdot 10^{-8}$	7,90	146	138	130	118	100	85	66	40
	2	1 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$1{,}9 \cdot 10^{-7}$	6,72	146	140	134	123	100	89	75	50
	3	5 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$8{,}3 \cdot 10^{-7}$	6,08	146	141	136	127	100	91	80	58
	4	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 1 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}0 \cdot 10^{-8}$	8,00	146	146	146	146	100	100	100	100

[1]) Im Versuch I und II wurden nicht 30 sondern 25 ccm ges. Tributyrinlösung angewandt.

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch		Regulatorgemisch	$[H^+]$ elektrometrisch gemessen	p_H	Tropfenzahl nach Minuten 0	12	24	48	Vorhandenes Tributyrin in % nach Minuten 0	12	24	48
II[1])	1	1 prim. Phosph. : 100 sek. Phosph.	$1{,}40 \cdot 10^{-8}$	7,85	140	129	120	113	100	63	45	31
	2	5 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$7{,}13 \cdot 10^{-7}$	6,14	140	134	128	118	100	76	62	40
	3	50 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$4{,}50 \cdot 10^{-6}$	5,35	140	137	133	127	100	77	73	58
	4	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 1 prim. Phosph. : 200 sek. Phosph.	$9{,}20 \cdot 10^{-9}$	8,04	140	140	140	140	100	100	100	100
III	1	10 sek. Phosph. : 1,5 n/10-NaOH	$9{,}34 \cdot 10^{-9}$	8,03	146	138	130	116	100	85	67	37
	2	10 sek. Phosph. : 1,0 n/10-NaOH	$1{,}26 \cdot 10^{-8}$	7,90	146	139	131	—	100	88	68	—
	3	Sekundäres Phosphat	$3{,}81 \cdot 10^{-8}$	7,42	146	140	132	—	100	89	70	—
	4	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph. : 1,5 n/10-NaOH	$3{,}64 \cdot 10^{-9}$	8,44	146	146	145	145	100	100	98	98
IV	1	10 sek. Phosph. : 1,5 n/10-NaOH	$7{,}78 \cdot 10^{-9}$	8,11	146	139	132	119	100	88	71	40
	2	2 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$4{,}90 \cdot 10^{-8}$	7,31	146	140	134	121	100	89	75	47
	3	6 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}18 \cdot 10^{-7}$	6,93	146	139	135	122	100	88	78	49
	4	4 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}00 \cdot 10^{-7}$	7,00	146	141	135	122	100	91	78	49
	5	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph. : 1,5 n/10-NaOH	$2{,}96 \cdot 10^{-9}$	8,53	146	146	145	144	100	100	98	97
V	1	10 sek. Phosph. : 1,8 n/10-NaOH	$5{,}63 \cdot 10^{-9}$	8,25	145	138	130	116	100	85	66	36
	2	8 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}55 \cdot 10^{-7}$	6,81	145	139	132	120	100	88	70	44
	3	10 prim. Phosph. : 10 sek. Phosph.	$1{,}82 \cdot 10^{-7}$	6,74	145	139	132	121	100	88	70	46
	4	10 prim. Phosph. : 5 sek. Phosph.	$1{,}91 \cdot 10^{-7}$	6,72	145	140	133	122	100	89	72	48
	5	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph. : 1,8 n/10-NaOH	$1{,}66 \cdot 10^{-9}$	8,78	146	146	145	144	100	100	98	97
VI	1	10 sek. Phosph. : 2 n/10-NaOH	$3{,}47 \cdot 10^{-9}$	8,46	146	139	133	120	100	88	72	45
	2	7 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$2{,}58 \cdot 10^{-7}$	6,59	146	141	135	125	100	91	78	55
	3	10 prim. Phosph. : 5 sek. Phosph.	$3{,}72 \cdot 10^{-7}$	6,43	146	141	137	127	100	91	82	60
	4	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph. : 2 n/10-NaOH	$6{,}77 \cdot 10^{-10}$	9,17	146	145	144	143	100	98	97	95
VII	1	10 sek. Phosph. : 2,1 n/10-NaOH	$3{,}80 \cdot 10^{-9}$	8,39	146	138	130	117	100	85	66	38
	2	5 prim. Phosph. : 5 sek. Phosph.	$1{,}80 \cdot 10^{-7}$	6,74	146	140	133	121	100	89	73	47
	3	5 prim. Phosph. : 1 sek. Phosph.	$8{,}92 \cdot 10^{-7}$	6,05	146	142	137	128	100	93	82	62
	4	Primäres Phosphat	$9{,}12 \cdot 10^{-5}$	4,04	146	146	146	145	100	100	100	98
	5	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph. : 2,1 n/10-NaOH	$6{,}20 \cdot 10^{-10}$	9,20	146	145	144	143	100	98	97	95

[1]) Im Versuch I und II wurden nicht 30, sondern 25 ccm ges. Tributyrinlösung angewandt.

Tabelle I (Fortsetzuug).

Versuch		Regulatorgemisch	[H·] elektrometrisch gemessen	p_H	Tropfenzahl nach Minuten 0	12	24	48	Vorhandenes Tributyrin in % nach Minuten 0	12	24	48
VIII[1])	1	10 sek. Phosph.: 1,5 $^n/_{10}$-NaOH	$1{,}50 \cdot 10^{-8}$	7,87	146	130	116	—	100	66	36	—
	2	Sekundäres Phosphat	$1{,}70 \cdot 10^{-8}$	7,76	146	130	116	—	100	66	36	—
	3	5 prim. Phosph.: 2,5 sek. Phosph.	$3{,}55 \cdot 10^{-7}$	6,45	146	136	126	116	100	80	57	36
	4	6 prim. Phosph.: 1,0 sek. Phosph.	$1{,}20 \cdot 10^{-6}$	5,92	146	139	132	119	100	86	70	42
	5	6 prim. Phosph.: 1,0 sek. Phosph.	$2{,}30 \cdot 10^{-6}$	5,65	146	139	132	120	100	86	70	44
	6	10 prim. Phosph.: 0,7 sek. Phosph.	$3{,}10 \cdot 10^{-6}$	5,53	146	140	134	123	100	89	75	51
	7	10 prim. Phosph.: 0,1 sek. Phosph.	$1{,}40 \cdot 10^{-5}$	4,85	146	143	139	132	100	95	86	70
	8	Primäres Phosphat	$2{,}59 \cdot 10^{-5}$	4,59	146	144	142	138	100	97	93	85
	9	Kontrollversuch mit aufgekochtem Serum: 10 sek. Phosph.: 1,5 $^n/_{10}$-NaOH	$1{,}20 \cdot 10^{-8}$	7,93	146	146	146	145	100	100	100	98

Deutlich zeigen auch die nachfolgenden Figuren die Verhältnisse.

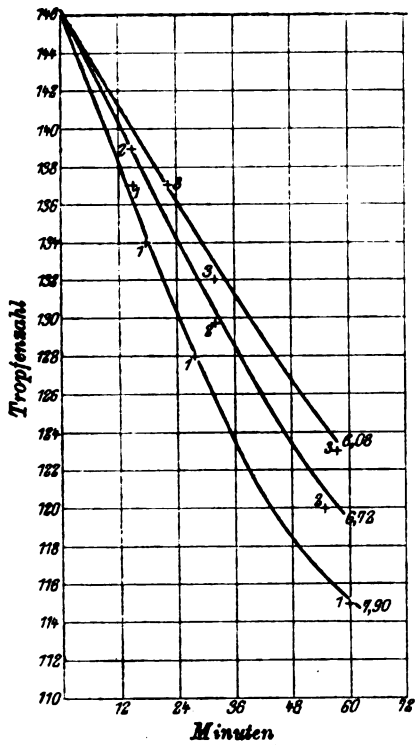


Fig. 1 (Vers. I).

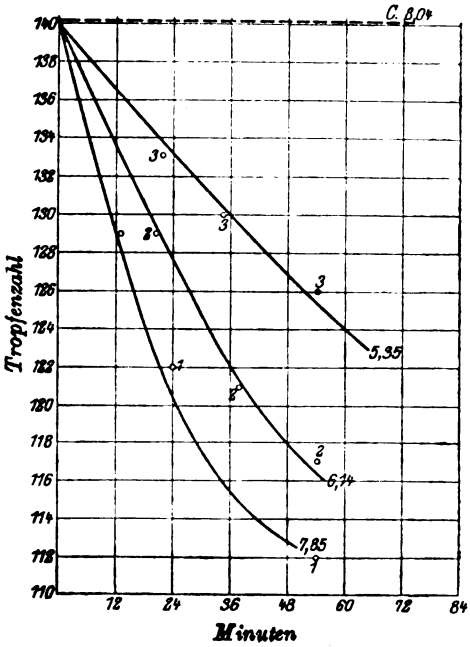


Fig. 2 (Vers. II).

[1]) In diesem Versuch war die Verdünnung des Serums 2:15.

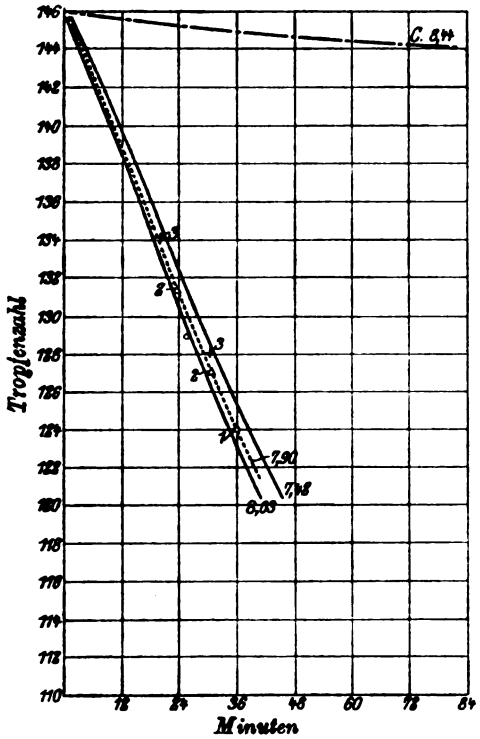


Fig. 3 (Vers. III).

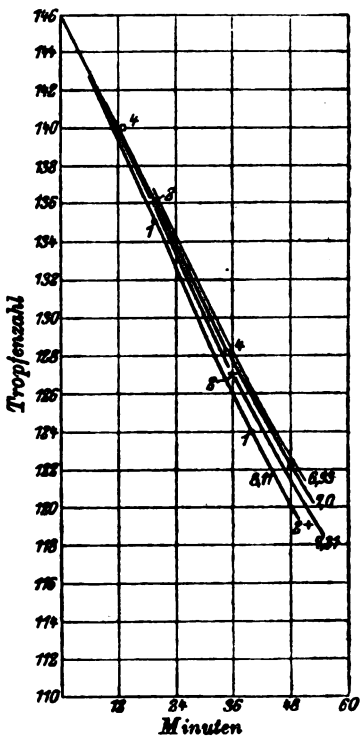


Fig. 4 (Vers. IV).

Ehe wir die Ergebnisse der vorstehenden Versuchsreihen diskutieren konnten, mußten wir noch feststellen, ob die bloße Variation der Salzkonzentration im Regulatorgemisch — innerhalb gewisser Grenzen — bei gleichbleibender oder fast gleichbleibender $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration die Geschwindigkeit der Spaltung zu beeinflussen vermag. Zu diesem Zwecke wurden die folgenden Versuche angestellt.

Versuch IX.

Zu je 50 ccm einer konz. wässerigen Tributyrinlösung wurde 1 ccm 10fach verdünntes Kaninchenserum zugefügt, dann ein Phosphatgemisch ($^1/_8$ mol.) 1 prim. zu 2 sek. Phosphat und zwar in Probe 1 1 ccm, in Probe 2 10 ccm und in Probe 3 15 ccm. Die einzelnen Proben wurden mit dest. Wasser auf 65 ccm aufgefüllt. p_H in Probe 1 6,93, in 2 6,98, in 3 6,98. Die Lösungen waren in bezug auf das Phosphat bzw. $^1/_{195}$, $^1/_{19,5}$ und $^1/_{13}$ mol. Die Tropfenzahl (T.-Z.) betrug in allen drei Proben sofort 136, nach 1 Stunde 130, nach 2 Stunden 123.

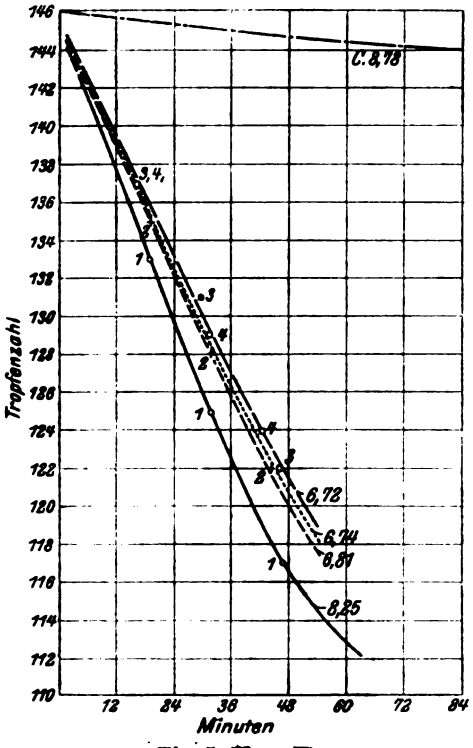


Fig. 5 (Vers. V).

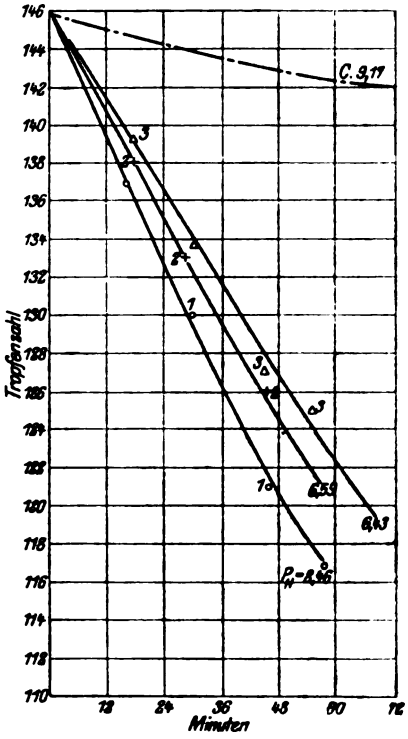


Fig. 6 (Vers. VI).

Versuch X.

Anordnung wie in Versuch IX. Das zugefügte Phosphatgemisch ($^1/_8$ mol.) war 1 prim.: 8 sek. Phosphat. p_H in Probe 1 7,35, in 2 7,62. In bezug auf das Phosphat war Probe 1 $^1/_{128}$, Probe 2 $^1/_{12,8}$ mol. — T.-Z. sofort, nach 1 und nach 2 Stunden war in Probe 1 138, 130, 115. in 2 138, 132, 115.

Versuch XI.

Anordnung wie in Versuch X. Das zugefügte Phosphatgemisch ($^1/_8$ mol.) war 10 prim.: 1 sek. p_H in Probe 1 5,82, in 2 5,75. In bezug auf das Phosphat war Probe 1 $^1/_{128}$, Probe 2 $^1/_{12,8}$ mol. T.-Z. sofort, nach 1 und nach 2 Stunden war in Probe 1 138, 132, 121, in 2 138, 134, 125.

Versuch XII.

Anordnung wie in Versuch IX. Das zugefügte Phosphatgemisch ($^1/_8$ mol.) war 1 prim.: 8 sek. p_H in Probe 1 7,49, in 2 7,45. In bezug auf das Phosphat war Probe 1 $^1/_{16}$, Probe 2 $^1/_{32}$ mol. T.-Z. sofort, nach 1 und nach 2 Stunden in Probe 1 137, 123, 113, in 2 137, 123, 112.

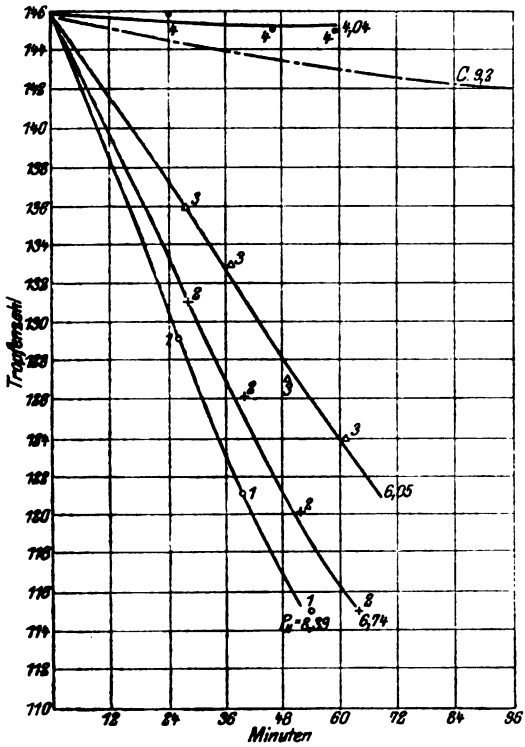


Fig. 7 (Vers. VII).

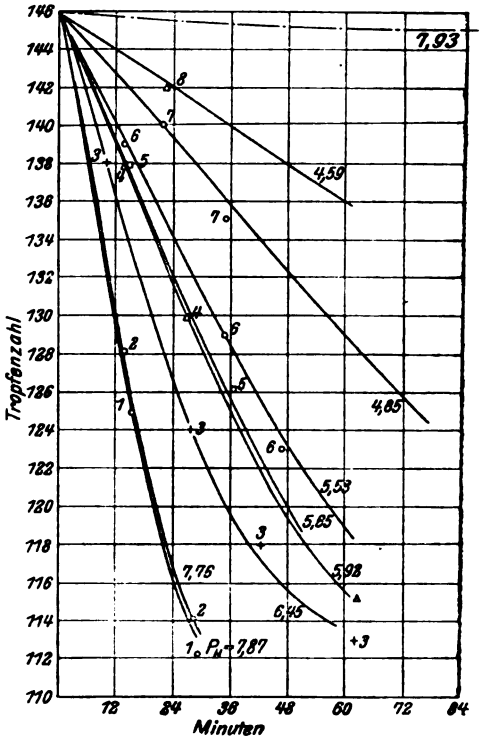


Fig. 8 (Vers. VIII).

Versuch XIII.

Anordnung wie in Versuch IX. Das zugefügte Phosphatgemisch ($^1/_2$ mol.) war 1 prim.: 8 sek. Phosphat, p_H in Probe 1 7,12, in 2 7,48. In bezug auf das Phosphat war Probe 1 $^1/_{195}$, Probe 2 $^1/_{15}$ mol. T.-Z. sofort, nach 1 und nach 2 Stunden in Probe 1 136, 127, 111, in 2 136, 126, 109.

Aus diesen Versuchen, die noch mannigfach variiert wurden, ergibt sich, daß innerhalb der eingehaltenen Grenzen die Konzentration der Lösung an Phosphat keinen Einfluß auf die Wirksamkeit des Fermentes ausübt. Hingegen ist die H'-Ionenkonzentration, die durch Änderung des Verhältnisses zwischen primärem und sekundärem Phosphat und durch sekundäres Phosphat + $^n/_{10}$-NaOH in den in den Tabellen angegebenen Grenzen variiert werden kann, von ausschlaggebender Bedeutung für die fermentative Spaltung. Das Optimum der Wirkung liegt bei $p_H = 7{,}8$ bis 8,5. Bei einer Reaktion, die p_H ca. 8,4 entspricht, beginnt jedoch die Spaltung des Tributyrins auch ohne Fer-

ment innerhalb der Zeitdauer der fermentativen Spaltung meßbar zu werden. Für $p_H = 8{,}33$ ist die „Alkalispaltung" während 1 Stunde nur äußerst gering, stärker jedoch bei $p_H = 8{,}79$ (vgl. die mit *C* bezeichneten Kurven der Figur 9). Der Umsatz für $p_H = 7{,}8$ bis 8,30 ist der gleiche, die etwas stärkere Spaltung bei 8,56 ist zum Teil schon auf die Wirkung der höheren alkalischen Reaktion als solcher zurückzuführen.

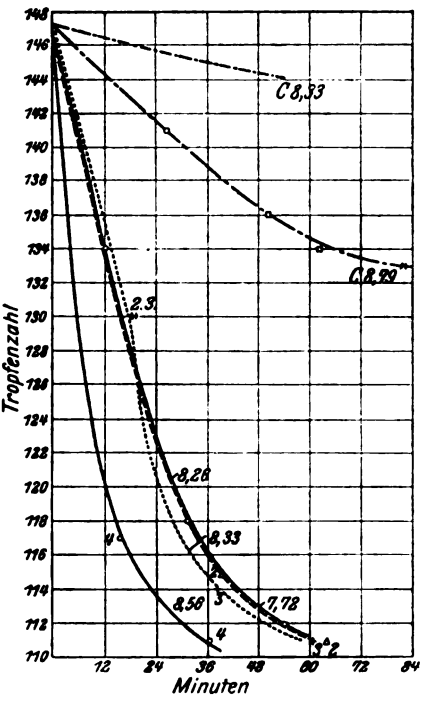


Fig. 9.

Bei $p_H = 7{,}3$ ist die Fermentwirkung bereits merklich schwächer als bei 7,8, um bei noch stärker saurer Reaktion immer mehr abzunehmen. Bei $p_H = 6$ beträgt sie nur die Hälfte der optimalen Wirksamkeit, bei $p_H = 4$ ist sie so gut wie Null.

Berechnen wir nun die relativen Umsatzgeschwindigkeiten bei den verschiedenen $H^{\cdot}$-Ionenkonzentrationen und tragen die Werte als Funktion von p_H in einem Koordinatensystem als Ordinate ein, so erhalten wir die in der Figur 10 eingezeichneten Punkte; die verschiedenen Zeichen entsprechen den verschiedenen Versuchen. Zeichnet man nun in den entsprechenden Maßen die theoretische Dissoziationskurve einer Säure mit der Dissoziationskonstante $p_H = 6$ (die ausgezeichnete Linie), so findet man eine äußerst befriedigende Übereinstimmung der experimentell ermittelten Punkte mit denen der theoretischen Kurve[1]).

[1]) Daß der angewandte Maßstab der Ordinate in der Figur 11 mit dem „rationellen" übereinstimmt, läßt sich sowohl nach der Bestimmung der Tangente des Neigungswinkels der Kurve als auch nach dem vor kurzem beschriebenen Verfahren (diese Zeitschr. 58, 147) feststellen. Die Abweichungen im Anfangsgebiet der Kurve sind mit den großen experimentellen Fehlern in diesem Bereich der besonders kleinen Umsätze befriedigend erklärt.

Wir können daher entsprechend der von L. Michaelis entwickelten Anschauung in der Kurve die Dissoziationskurve des Fermentes erblicken, dessen Wirksamkeit proportional dem Dissoziationsgrad verläuft. Die relativen Umsatzgeschwindigkeiten verhalten sich wie die entsprechenden wirksamen Fermentmengen. Bei der Berechnung der Umsatzgeschwindigkeiten

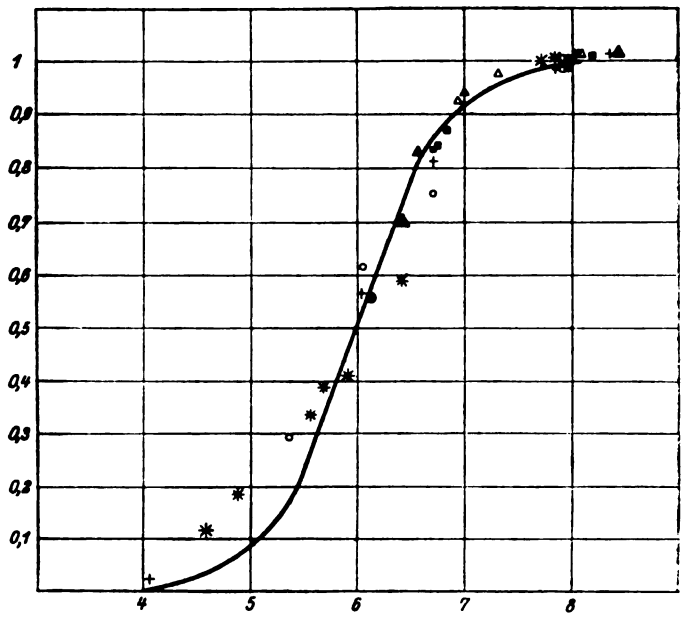


Fig. 10.

wurden gleiche Umsätze den entsprechenden Zeiten umgekehrt proportional gesetzt; hierzu ist man berechtigt, da nach Untersuchungen von P. Rona bei wechselndem Gehalt an Esterase (bei gleicher H'-Ionenkonzentration) die Zeiten gleichen Umsatzes sich umgekehrt wie die Fermentmengen verhalten.

Im Gebiete des Optimums ist die Blutesterase als Anion vorhanden. Dies zeigen folgende Überführungsversuche[1]).

[1]) Bei den Überführungsversuchen sind wir von Herrn Dr. F. Arnheim freundlichst unterstützt worden.

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Zusammensetzung des Regulatorgemisches	[H] elektrometrisch gemessen	p_H	Wanderung
1	Phosphatgemisch zu $^1/_{30}$ mol. prim. 1, sek. 1.	$1{,}48 \cdot 10^{-7}$	6,82	anodisch
2	Phosphatgemisch zu $^1/_{30}$ mol. prim. 5, sek. 1.	$5{,}50 \cdot 10^{-7}$	6,25	„
3	Phosphatgemisch zu $^1/_{27}$ mol. prim. 7,5, sek. 1.	$9{,}34 \cdot 10^{-7}$	6,13	„
4	Phosphatgemisch zu $^1/_{27}$ mol. prim. 10, sek. 1.	$9{,}78 \cdot 10^{-7}$	6,01	„
5	Acetatgemisch zu $^n/_{10}$-Essigsäure 1, Natriumacetat 8.	$3{,}26 \cdot 10^{-6}$	5,49	steht still
6	Acetatgemisch zu $^n/_{10}$-Essigsäure 1, Natriumacetat 1.	$2{,}42 \cdot 10^{-5}$	4,62	do.
7	Acetatgemisch zu $^n/_{10}$-Essigsäure 2, Natriumacetat 1.	$4{,}69 \cdot 10^{-5}$	4,33	sehr schwach kathodisch und anodisch
8	Acetatgemisch zu $^n/_{10}$-Essigsäure 5, Natriumacetat 1.	$1{,}07 \cdot 10^{-4}$	3,96	do.
9	Lactatgemisch zu $^n/_{10}$-Milchsäure 1, Natriumlactat 1.	$2{,}24 \cdot 10^{-4}$	3,64	kathodisch
10	Lactatgemisch zu $^n/_{10}$-Milchsäure 1,5, Natriumlactat 1.	$4{,}40 \cdot 10^{-4}$	3,35	„
11	Lactatgemisch zu $^n/_{10}$-Milchsäure 3, Natriumlactat 1.	$6{,}40 \cdot 10^{-4}$	3,19	„
12	Lactatgemisch zu $^n/_{10}$-Milchsäure 13, Natriumlactat 1.	$2{,}08 \cdot 10^{-3}$	2,67	„

Was die Ausführung der Überführungsversuche anlangt, so ist folgendes zu bemerken. Als Mittelflüssigkeit diente 1 ccm Serum mit dem betreffenden Regulatorgemisch auf 20 ccm aufgefüllt, als Seitenflüssigkeit dasselbe Gemisch ohne oder mit aufgekochtem Serum. Da das Ferment bereits in einem „Regulatorgemisch", d. h. im Serum enthalten ist, so konnte dessen Menge nicht beliebig erhöht werden, weil sonst eine ausgiebigere Variation der H'-Ionenkonzentration durch zugefügte Regulatoren sich nicht gut hätte durchführen lassen. Da die Konzentration des regulierenden Salzgemisches im Überführungsversuch auch nur höchstens $^n/_{10}$ betragen darf, war die Festlegung einer erwünschten H'-Ionenkonzentration mit einiger Schwierigkeit verbunden. Infolge der relativ geringen Fermentmengen, die zu der entsprechenden Elektrode wandern, war es auch nicht möglich, das Spaltungsvermögen eines kleinen Teiles der Seitenflüssigkeit auf die gesättigte wässerige Tribu-

tyrinlösung (die durch Hinzufügen der das Ferment enthaltenden Lösung nicht nennenswert verdünnt werden durfte) zu untersuchen, sondern es mußte folgendermaßen verfahren werden. Nach Unterbrechung des Versuches, der 100 bis 140 Minuten dauerte, wurde die Mittel- und die Seitenflüssigkeit (je ca. 10 ccm) abgenommen, mit einigen Tropfen $10^0/_0$iger Sodalösung auf ca. $p_H = 7{,}5$ gebracht (kolorimetrisch mittels Neutralrot bestimmt), dann mit 2 Tropfen Tributyrin gesättigt, vom ungelösten Tributyrin abfiltriert, dann sofort und nach 3 Stunden (bei 18^0) die Tropfenzahl bestimmt. Zur Feststellung der H·-Ionenkonzentration mittels Gasketten wurden stets Parallelversuche angestellt.

Aus den Überführungsversuchen ergibt sich eindeutig, daß von $p_H = 6$ an abwärts die Esterase rein anodisch wandert. Daraus folgt, daß bei der Esterase des Blutes nur die Anionen wirksam sind und die Figur 10 den Dissoziationsgrad in bezug auf die Anionen darstellt. Die Säurendissoziationskonstante ist $p_H = 6{,}0$; das Optimum der Wirksamkeit liegt bei ca. 10^{-8}. Abweichend hiervon fand Davidsohn für die Esterase des Darmsaftes die Dissoziationskonstante bei 10^{-7}. Ob man auf Grund dieser Divergenz berechtigt ist anzunehmen, daß die Esterase des Blutes und die des Darmsaftes verschieden sind, müssen noch weitere Untersuchungen, die bereits im Gange sind, entscheiden. An und für sich wäre es nicht unwahrscheinlich, daß das Ferment im Blute einem weniger alkalischen Medium angepaßt ist als das im Darmsaft. Sicher verschieden ist die Blutesterase von der des Magensaftes, für das das Optimum nach Davidsohn in einem viel saureren Gebiete liegt.

Im Anschluß an die obigen Untersuchungen haben wir einige Versuche angestellt über die Spaltbarkeit verschiedener Ester durch die Esterase des Kaninchenblutes. Es kamen dabei hauptsächlich die in Wasser schwer löslichen Triglyceride in Betracht. Bei leicht löslichen Estern, wie z. B. beim Monacetin, ändert sich die Menge des Substrates während der Beobachtungsdauer nur so wenig, daß eine Abnahme der Erniedrigung der Oberflächenspannung durch die entstehenden Spaltprodukte nicht deutlich genug hervortritt. Andererseits war bei den nur in äußerst geringen Spuren löslichen Triglyceriden, vom Tributyrin bis zum Tricaproin, die Darstellung äquimolekularer Lösungen

experimentell nicht gut durchführbar, so daß wir auf einen exakten Vergleich der Verseifbarkeit verschiedener Ester zunächst verzichtet haben.

In welchem Umfange gesättigte wässerige Lösungen von Tripropionin[1]), Tributyrin, Triisobutyrin, Trivalerin, Triisovalerin und von Tricaproin von der Blutesterase verseift werden, zeigt die nebenstehende Figur 11.

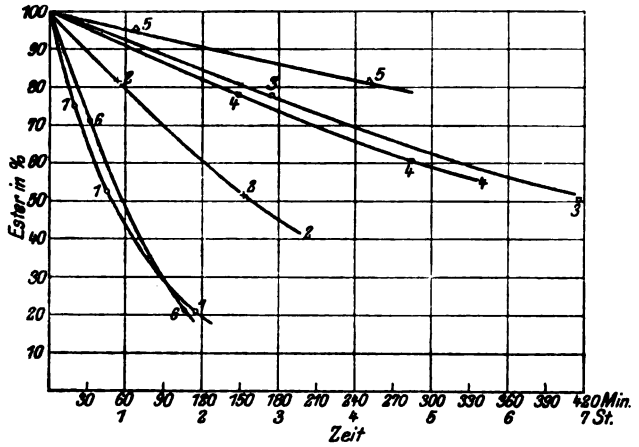


Fig. 11.

Nr. 1: Spaltungskurve des Tributyrins.
„ 2: „ „ Triisobutyrins.
„ 3: „ „ Trivalerins.
„ 4: „ „ Triisovalerins.
„ 5: „ „ Tripropionins.
„ 6: „ „ Tricaproins.

Bei diesen Versuchen wurden je 30 ccm der gesättigten wässerigen Lösung der betreffenden Ester mit 3 ccm Phosphatgemisch auf die optimale Reaktion gebracht und mit 1 ccm 7fach verdünntem Kaninchenserum versetzt. Das benutzte Kapillarröhrchen wurde für die verschiedenen Konzentrationen der wässerigen Lösungen der betreffenden Ester (gesättigte Lösung = 100) geeicht. Die Abnahme des Esters ist in Prozenten des Anfangswertes ausgedrückt.

[1]) Über die Darstellung von Tripropionin vgl. R. W. Seuffert, Zeitschr. f. Biol. 61, 551, 1913. Das von uns verwendete Tripropionin verdanken wir der Güte des Herrn Seuffert. Das Trivalerin, -isovalerin, -isobutyrin wurde nach Schey, Rec. des trav. Pays-Bas 18, 192 dargestellt. Die anderen Ester sind Kahlbaumsche Präparate.

Aus den Versuchsergebnissen kann jedenfalls gefolgert werden, daß die verschiedenen Ester von der Esterase verschieden schnell angegriffen werden, wie dies Kastle und Loevenhart[1]) und Morel und Terroine[2]) auch für die Pankreaslipase durch systematische Untersuchungen gezeigt haben. Für die schwerere oder leichtere Angreifbarkeit der Ester scheinen vor allem konstitutive Einflüsse in Betracht zu kommen.

Aus Versuchen mit verschiedenen Estern der Essigsäure, z. B. beim essigsauren Amyl, beim essigsauren Propyl, beim essigsauren Amylenhydrat ergab sich ebenfalls, daß die verschiedenen Ester von dem Ferment mit ungleicher Geschwindigkeit angegriffen werden[3]); so z. B. schnell beim essigsauren Amyl, äußerst langsam beim essigsauren Amylenhydrat. Ist auch die Einstellung des Fermentes auf sein Substrat keineswegs so spezifisch wie etwa bei den kohlenhydrat- oder eiweißspaltenden Fermenten, so sind hier immerhin gewisse Unterschiede in der Wirkung zu beobachten.

Zusammenfassend können wir also sagen, daß die Esterase im Serum des Kaninchens ihr Optimum bei $[H^{\cdot}] =$ ca. 10^{-8} hat. Wirksam sind die Ferment-Anionen. Die Säuredissoziationskonstante ist gleich $1 \cdot 10^{-6}$. Die Blutesterase ist demnach sicher verschieden von der Magenlipase, möglicherweise auch von der Darmlipase. Die Blutesterase wirkt auf verschiedene Ester verschieden schnell ein, wobei die Konstitution der betreffenden Ester von hauptsächlicher Bedeutung ist.

---

[1]) Amer. Chem. Journ. 24, 491.

[2]) Journ. de Physiol. et de Pathol génér. 14, 58, 1912.

[3]) Kontrollversuche mit vollständiger Verseifung dieser (wie auch der anderen oben angeführten) Ester mittels Natronlauge zeigten, daß die Spaltprodukte in den vorliegenden Konzentrationen die Oberflächenspannung nicht oder nicht nennenswert erniedrigen können. Beim essigsauren Isobutyl dokumentiert sich die Spaltung in einer Erhöhung der Tropfenzahl.

Ein experimenteller Beitrag zur Frage der Fettbildung aus Eiweiß bei der Reifung des Käses.

Von

Kura Kondo.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

In einem langen Zeitraume, etwa von der Mitte des vergangenen Jahrhunderts bis vor kurzem galt die Virchow-Voitsche Lehre der Fettbildung aus Eiweiß im Tierorganismus sowohl in der Pathologie wie in der Physiologie fast für eine unangreifbare. Als eins der schwerwiegenden Beweisstücke dafür wurde unter anderen auch die vermeintliche Vermehrung des Fettes beim Reifen des Käses oft angeführt.

Der erste, der die Fettbildung aus Eiweiß bei der Reifung des Käses zweifellos festgestellt zu haben glaubte, war Ch. Blondeau[1]), diese Angabe datiert aus dem Jahre 1864. Derselbe fand im frischen Käse 1,85%, in 1 Monat altem 16,12% und in 2 Monate altem 32,31% Fett. Demgegenüber kam E. Duclaux[2]) durch seine Untersuchungen zu dem Schlusse, daß keine wesentliche Veränderung des Fettgehaltes bei der Käsereifung stattfindet. Brassier[3]) kam sogar zu dem ganz entgegengesetzten Resultate und erhielt bei dem genannten Vorgange eine absolute Abnahme des Fettes. N. Sieber[4]) erklärte wiederum die von ihr beobachtete Vermehrung des Fettes bei der Käsereifung nur für eine scheinbare, indem der Käse mit dem Alter Wasser verliert und so zu einer relativen Zunahme des Fettgehaltes führt.

Inzwischen ist eine ganze Reihe von Untersuchungen über diesen Gegenstand publiziert worden, deren Resultate bald der einen, bald der anderen Anschauung entsprachen. Von den Autoren, die sich mit dieser

[1]) Blondeau, Ann. Chim. Physique **4**, 1, 208.

[2]) Duclaux, Maturation et madodies du fromage du Cantal.

[3]) Brassier, Zeitschr. f. prakt. Chem. **2**, 21, 203.

[4]) Nadina Sieber, Journ. f. prakt. Chem. **21**, 22, 203.

Frage beschäftigt haben, sind noch zu erwähnen: E. Kemmerich[1]), A. Müller[2]), Boussingault[3]), Weidmann[4]), Schulze und Benecke[5]), Fleischmann[6]), Kellner[7]), Maggiora[8]), H. Jacobsthal[9]) usw.

Soweit ich die Literatur übersehe, scheint die Arbeit von H. Jacobsthal im Jahre 1893 in bezug auf diese Frage die letzte zu sein. Da dieselbe nach der berühmten Kritik von Pflüger betreffs der Fettbildungsfrage im Tierorganismus erschienen ist und um so mehr, da dieselbe auf Veranlassung und unter der Leitung von Pflüger selber entstanden ist, so fasse ich hier die Hauptresultate derselben kurz zusammen. In den 3 Versuchsreihen, die Jacobsthal angestellt hatte, wurde der Käse teils im getrockneten, teils im wasserhaltigen Zustande jedesmal vor und nach der Reifung desselben durch langdauernde Ätherextraktion auf seinen Fettgehalt untersucht, indem bei dem frischen Materiale mehrtägige Alkoholextraktion voranging und dann der Pulver- und Alkoholrückstand zusammen mit Äther extrahiert wurde. Dabei fand Jacobsthal in allen 3 Versuchen eine unverkennbare Vermehrung des Ätherextraktes nach der Reifung des Käses. Dieselbe betrug auf 100 g frische Substanz berechnet:

	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	
Absolute Vermehrung	0,27 g	0,5135 g	a) 0,3369 g	b) 1,0737 g
Relative „	12%	17%	31%	100%

Von der Vermutung ausgehend, daß diese Vermehrung des Ätherextraktes möglicherweise durch andere ätherlösliche Substanzen außer durch Fett bedingt sein könnte, hat Jacobs-

---

[1]) K. Kemmerich, Beiträge zur physiologischen Chemie der Milch. Arch. f. d. ges. Physiol. **6**, 401.

[2]) A. Müller, Landw. Jahrb. **1**, 68.

[3]) Boussingault, in einer Versammlung der Société Centrale d'agriculture du France 1878.

[4]) Weidmann, Untersuchungen über die Zusammensetzung und den Reifungsprozeß der Emmenthaler Käse. Landw. Jahrb. **11**, 587.

[5]) Schulze und Benecke, Landw. Jahrb. **16**, 350.

[6]) Fleischmann, „Das Molkereiwesen", Braunschweig 1879.

[7]) Kellner, Landw. Versuchsstationen **25**, 39.

[8]) A. Maggiora, Arch. f. Hygiene **10**, 4, 1892.

[9]) H. Jacobsthal, Versuch über die Fettbildung bei der Reifung des Käses. Arch. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. der Menschen und Tiere **54**, 484, 1893.

thal jeden Ätherextrakt auf den Gehalt von Stickstoff, Milchsäure und Cholesterin untersucht. Er fand dabei zwar eine geringfügige Vermehrung der genannten Nichtfettsubstanzen, aber dieselben allein reichten bei weitem nicht aus, um die Vermehrung des Ätherextraktes bei dem genannten Prozeß zu erklären. So gelangte Jacobsthal aus diesen Versuchen zu dem Schluß, daß sich das Fett in der Tat bei dem Reifungsprozeß des Käses neu bildet. Die Vermehrung bezog sich hauptsächlich auf die freien Fettsäuren, indem dieselben um das 6fache der ursprünglichen Menge zunahmen (100 g Käse enthielten vor der Reifung 0,228 g und nach der Reifung 1,223 g freier Fettsäuren).

Jacobsthal fand nun im Verlaufe der Käsereifung eine massenhafte Vegetation von Schimmelpilzen, die schon nach wenigen Tagen den Käse mit einem dichten weißlichen Pelz überzogen. Hierin fand Jacobsthal einen Ausweg, dem Widerspruch gegen die neue Kritik von Pflüger zu begegnen, und erklärte, daß der ganze Prozeß der von ihm beobachteten Fettvermehrung bei der Käsereifung lediglich auf der synthetischen Kraft der Schimmelpilze beruhe. Nun haben neuerdings Kumagawa und Ohta[1]) mit aller Sicherheit festgestellt, daß die Schimmelpilze in hohem Grade die Fähigkeit besitzen, Fett aufzuzehren. Hiernach ist es zweifellos erwiesen, daß alle bisherigen Anschauungen, derzufolge Schimmelpilze auf synthetischem Wege Fettstoffe zu erzeugen vermögen, gänzlich irrtümlich waren. Andererseits ist zu bedenken, daß in allen oben erwähnten Versuchen von Blondeau bis Jacobsthal zur Bestimmung des Fettes, die zur Entscheidung der hier gestellten Frage gewiß eine fundamentale Bedeutung hat, eine Methode verwendet wurde, die für wissenschaftliche Zwecke durchaus ungenügend ist, nämlich eine einfache Extraktion des getrockneten Käses mit Äther.

Bei dieser Sachlage folgte ich gerne dem Rate von Herrn Prof. M. Kumagawa, unter seiner Leitung und mittels der Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode die Frage von neuem zu prüfen.

---

[1]) K. Ohta, diese Zeitschr. 31, 177, 1911.

Darstellung des Käses.

Um den Fettgehalt des Käses vor und nach der Reifung einwandfrei genau vergleichen zu können, ist es unbedingt notwendig, den ganzen Verlauf des Reifungsprozesses zu verfolgen. Zu dem Zwecke habe ich nach einem Fachmann die Darstellungsweise des Käses in kleinem Maßstabe erlernt. Je nach der Art und Weise der Darstellung unterscheidet man verschiedene Arten des Käses. Da indessen der Verlauf des Reifungsprozesses bei allen Methoden derselbe ist, so habe ich zur Darstellung des Käses ausschließlich das Cheddarersche Verfahren benutzt. Das gesamte Material, das den folgenden Untersuchungen zugrunde gelegt wurde, wurde von mir selbst dargestellt.

Hier schicke ich eine kurze Beschreibung der Käsebereitung voraus.

Eine zirka mit 1 l frischer Kuhmilch beschickte Petrischale von passender Größe wird in einen Wasserthermostat von 25° so hineingestellt, daß das untere Drittel der Petrischale darin eintaucht. Die Milch gerät allmählich in Gärung und ihr Säuregrad nimmt langsam zu. Hat die Temperatur der Milch 25° erreicht, so werden einige Kubikzentimeter Labextrakt[1]) zugesetzt und die Mischung wird tüchtig durchgerührt. Die Milch fängt bald an zu gerinnen. Sobald die Gerinnung vollzogen ist und die ganze Milch sich in eine derbe Gallerte umgewandelt hat, was etwa 30 Minuten in Anspruch nimmt, wird das Gerinnsel mittels eines dünnen langen Messers nach zwei Richtungen hin gitterförmig durchschnitten. Man wartet nun einige Minuten, während welcher Zeit ein Austreten der Molke und die weitere Härtung des Bruches erfolgt. Man rührt nun den Inhalt sorgfältig um, indem man den Bruch mit der Hand womöglich zu gleichmäßigen Teilchen zerkleinert. Alsdann wird der Thermostat auf etwa 38° reguliert. Nach ca. 1 Stunde läßt man die Molke durch Schiefstellung der Schale möglichst gut herausfließen, indem man gleichzeitig das Gerinnsel mit einem Tuche auspreßt. Dann

[1]) Das Labextrakt wurde nach der Soxhletschen Methode aus Schweinemagen von mir selbst dargestellt. Milchzeitung 1877, Nr. 37 und 38.

wird die Schale mit Gerinnsel noch eine Weile bei 40° im Thermostat schief gehalten, bis der Bruch genügend fest wird und sich gut von dem Reste der Molke trennt. Nachdem nun der Bruch in einer Reibschale mit 5 g Kochsalz gut durchgemischt worden ist, wird die Masse in ein Metallsieb aus Messing (ca. 9 cm Durchmesser) mit eingelegtem Tuch gebracht, ein 5-kg-Gewicht aufgelegt und noch eine Zeitlang im Thermostat bei 40° gehalten. Das mit passendem Metalldeckel versehene Sieb hat seitlich und am Boden viele feine Öffnungen, woraus die ausgepreßte Molke ohne Hindernis herausfließt. Nach etwa 2 Stunden wird das Sieb mit dem Inhalt aus dem Thermostat herausgenommen und durch Auflegen von einem etwa 20 kg Gewicht 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das so behandelte Caseingerinnsel stellt das Ausgangsmaterial der Untersuchung, namentlich des unreifen Käses dar.

Fettbestimmung des Käses.

Die aus dem Metallsieb herausgenommene Käsemasse wird durch zwei sich einander senkrecht durchkreuzende Schnittführungen in vier keilförmige annähernd gleichgroße Stücke geteilt. Um den Wasserverlust beim Wägen möglichst zu vermeiden, wurden nun alle vier Stücke zusammen in ein passend großes Wägeglas mit geschliffenem Stöpsel rasch hineingetan und zuerst in toto gewogen. Dann wurde jedesmal nach der Herausnahme je eines Stückes das geschlossene Glas zurückgewogen. Auf diese indirekte Weise wurde das Gewicht der einzelnen Käsestücke genau festgestellt und mit A, B, C, D bezeichnet. Das Stück A wird als Kontrolle sogleich auf seinen Fettgehalt untersucht, während die übrigen drei Stücke zum Zwecke der Reifung verschiedene Zeitlang entweder in der Luft oder in Kohlensäure- oder in Wasserstoffatmosphäre aufbewahrt werden. Fettbestimmung eines ganzen Stückes auf einmal ist wegen der zu großen Masse unpraktisch. Deshalb wurde eine kleine Voroperation vorangeschickt. Jedes Stück wird in einem Becherglas mit dem 10fachem Volumen von 2 g/dl[1]) Natronlauge versetzt und in siedendem Wasserdampf 2 Stunden

[1]) 2 g/dl = eine Auflösung von 2 g in 100 ccm.

gehalten. Hierdurch wird das Casein aufgelöst, das Fett teilweise verseift, und die ganze Flüssigkeit bildet eine gleichmäßige Emulsion. Nun gießt man die Flüssigkeit noch heiß in einen Meßkolben von 1 resp. 2 l Rauminhalt hinein und wäscht das Becherglas mehrmals mit heißem Wasser nach, wobei das Waschwasser sorgfältig in den Kolben hineingebracht wird. Mit der so vereinigten Lösung wird der Kolben beinahe bis auf die Marke aufgefüllt und in den Thermostat gebracht, dessen Temperatur etwas über 70° zeigt. Der Kolbeninhalt wird in der Wärme, ev. unter Zusatz von heißem Wasser so reguliert, daß das Niveau der Flüssigkeit etwas über der Marke steht. Nachdem der Inhalt gut durchgemischt worden ist, läßt man den Kolben noch eine Weile im Thermostat liegen, bis sich die Temperatur überall gut ausgeglichen hat. Jetzt löscht man die Flamme aus und wartet, bis die Temperatur gesunken ist. Sobald das Niveau der Flüssigkeit die Marke erreicht, was in der Regel bei 50° bis 60° erfolgt, wird ein aliquoter Teil der Lösung abpipettiert. Damit die Pipette gleich warm ist, wie der Kolbeninhalt, wird der erste Inhalt weggeworfen. Die Abpipettierung unter 50° ist nicht ratsam, weil die Flüssigkeit sonst zu gerinnen anfängt. Mehrere in Becher abpipettierte Proben von je 50 ccm werden nun unter Zusatz von 30 ccm 50 g/dl NaOH durch 2stündiges Kochen von neuem gründlich verseift. Die weitere Ausführung der Fettbestimmung geschieht genau nach der Vorschrift von Kumagawa-Suto[1]). Hinzufügen möchte ich nur noch folgendes. In den nachstehenden Untersuchungen habe ich den Fettwert meist im Petrolätherextrakt nach der Verseifung angegeben, ohne eine Trennung der hochmolekularen Fettsäuren von den unverseifbaren Substanzen auszuführen, weil die Menge der letzteren sehr gering ist. Nur in den besonderen Fällen, in denen eine ganz geringfügige Veränderung des Fettgehaltes genau beobachtet werden mußte, habe ich die Trennung der beiden Werte nach der von Tamura[2]) modifizierten Methode ausgeführt, was sehr umständlich und zeitraubend ist. Betreffs aller Einzelheiten der Methoden verweise ich auf die Originalschriften.

[1]) Kumagawa-Suto, Fettbestimmung. Diese Zeitschr. 8, 272, 1908. — Abderhaldensche Arbeitsmethoden 5.

[2]) Tamuras Arbeit erscheint demnächst.

Untersuchungen über die Vorbedingung für die eigentlichen Versuche, ob die einzelnen Käsestücke derselben Serien gleichmäßigen Fettgehalt haben.

Wie schon oben auseinandergesetzt, habe ich bei jedesmaliger Käsebereitung das ausgepreßte Ausgangsmaterial in vier annähernd gleiche Stücke geteilt, von denen A zur Kontrolle sofort und die übrigen B, C und D erst zur Reifung in verschiedenen Atmosphären aufbewahrt und dann verarbeitet wurden, damit der Fettgehalt vor und nach der Reifung genau verglichen werden kann. Die erste Bedingung hierzu ist demnach die, daß alle vier Käsestücke derselben Serie vor der Reifung denselben Fettgehalt haben müssen. Wäre dies nicht der Fall, so ist natürlich ein genauer Vergleich ganz unmöglich. Irgendeine Schlußfolgerung daraus ist in diesem Falle nicht gestattet. Wie es mir scheint, ist in den früheren Versuchen auf diesen Kardinalpunkt der ganzen Untersuchungen zu wenig Rücksicht genommen worden. Um diesen Einwand von vornherein ganz auszuschließen, habe ich in den folgenden zwei Versuchen alle vier Käsestücke ohne Aufbewahrung zur Reifung sofort auf ihren Fettgehalt untersucht, um zu sehen, wie sich die einzelnen Stücke in ihrem Fettgehalt zueinander verhalten. Die Resultate sind in den beiden Tabellen I und II verzeichnet.

In der Tabelle I ist zu beachten, daß je zwei Zahlen a und b in der Kolonne 3, die die absoluten Fettmengen der einzelnen Käsestücke in ihrem 20. Teil angeben, bis auf einige Promille sehr gut übereinstimmen, so daß in bezug auf die Exaktheit der Methode selber nichts zu wünschen übrig bleibt. Daß der Fettgehalt des Käses je nach dem Serienunterschied der Zubereitung große Differenz zeigt (Versuch 1 und 2), ist auch wohl zu bemerken, obgleich die beiden Käsearten anscheinend auf gleiche Weise dargestellt worden sind. Hieraus geht ein wichtiger Satz hervor, daß ein einwandfreier Vergleich des Fettgehaltes vor und nach der Reifung ausschließlich von ein und demselben Ausgangsmaterial derselben Serie möglich ist.

Um die prozentische Differenz der einzelnen Käsestücke in ihrem Fettgehalte mit einem Blicke zu veranschaulichen, wurde hieraus eine Übersichtstabelle zusammengestellt.

Tabelle I.
Fettgehalt des Ausgangskäsematerials vor der Reifung.
(Kontrollversuche.)

Nummer der Versuche	Art und Menge der einzelnen Proben	g	Menge des Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung. (Alle Proben auf je 1 l aufgefüllt.)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den einzelnen Proben g	%
1	A	25,04	a) 0,3670 b) 0,3656 Mittel 0,3663	7,326	29,26
	B	22,23	a) 0,3237 b) 0,3240 Mittel 0,3239	6,477	29,13
	C	25,28	a) 0,3675 b) 0,3683 Mittel 0,3679	7,358	29,11
	D	26,45	a) 0,3840 b) 0,3816 Mittel 0,3828	7,656	28,95
2	A	23,15	a) 0,2369 b) 0,2381 Mittel 0,2375	4,750	20,51
	B	20,71	a) 0,2106 b) 0,2110 Mittel 0,2108	4,215	20,35
	C	19,81	a) 0,2018 b) 0,2025 Mittel 0,2022	4,044	20,42
	D	21,50	a) 0,2180 b) 0,2179 Mittel 0,2180	4,360	20,28

Wie die Tabelle II zeigt, stimmen die prozentischen Fettzahlen der einzelnen Käsestücke in der zugehörigen Serie ziemlich gut überein. Die höchste Differenz beträgt bei B — 1,16, wenn der Fettgehalt der Stücke A als 100 gesetzt wird. Betrachtet man die einzelnen Stücke etwas genauer, so haben B, C und D stets um etwas weniger Fettgehalt als A, und zwar ungefähr der Reihe nach von A zu D an Differenz zunehmend. Es hat demnach den Anschein, daß je später die Bestimmung ausgeführt wird, um so mehr die Fettmenge abnimmt.

Tabelle II.

(Übersichtstabelle von Tabelle I.)

Prozentische Differenz des Fettgehaltes in den einzelnen Käseproben.

Nummer der Versuche	Art der einzelnen Proben	Menge des Petrol-ätherextraktes der einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich des Petrol-ätherextraktes zueinander (A als 100)	Prozentische Differenz des Fettgehaltes in den einzelnen Proben
1	A	29,26	100,00	0
	B	29,13	99,56	— 0,44
	C	29,11	99,49	— 0,51
	D	28,95	98,94	— 0,16
2	A	20,51	100,00	0
	B	20,35	99,22	— 0,78
	C	20,42	99,56	— 0,44
	D	20,28	98,88	— 1,12

Was das Hauptresultat dieser Vorversuche anbelangt, so kann man wohl als gewiß annehmen, daß der Fettgehalt der einzelnen Käsestücke derselben Serie gleichmäßig genug ist, um die Veränderung desselben infolge der Reifung mit genügender Sicherheit beurteilen zu können. Allerdings muß eine Differenz von 1% der Fettwerte in den einzelnen Käsestücken im Vergleiche mit der Kontrollprobe A als innerhalb der Fehlergrenzen betrachtet werden. Nachdem so die gleichmäßige Fettverteilung des Ausgangsmaterials, die den Kardinalpunkt der ganzen Untersuchung bildet, mit genügender Exaktheit festgestellt worden ist, gehe ich nunmehr zu den eigentlichen Untersuchungen über.

Kapitel I.

Untersuchungen über den zum Zwecke der Reifung in der Luft aufbewahrten Käse.

Da sich der Prozeß der Käsereifung für gewöhnlich in der Luft vollzieht und die bisherigen Untersuchungen sich sämtlich auf solche Präparate beziehen, so ist es zweckmäßig, zuerst die Untersuchung der in der Luft zur Reifung aufbewahrten Materialien auszuführen. Der im Keller bei einer Temperatur von 10 bis 18° aufbewahrte Käse erleidet im Verlaufe der Reifung keine gleichmäßige Veränderung. Es tritt auf der Oberfläche eine Vegetation von Schimmelpilzen auf. Die äußere Schicht wird gelbbräunlich und trocken, während die

innere noch weiß und weich bleibt. In zwei Versuchsserien habe ich den Fettgehalt der einzelnen Käsestücke vergleichender Weise bestimmt, und zwar A als Kontrolle sofort, B nach 15, C nach 30 und D nach 40 Tagen der Aufbewahrung.

Da nun in allen folgenden Untersuchungen sowohl die Käsebereitung wie die Fettbestimmung genau nach der oben beschriebenen Methode erfolgten, so halte ich es für zweckmäßig, die Ergebnisse der Untersuchungen und alle einzelnen Daten in Tabellen übersichtlich zusammenzustellen.

Tabelle III.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 1.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petroläther-extraktes in je 50 ccm Käselösung. (Alle Proben auf je 2 l aufgefüllt.)	Gesamte Menge des Petroläther-extraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	24,13	0	a) 0,1235 b) 0,1238 Mittel 0,1237	4,943	20,50
B	24,63	15	a) 0,1200 b) 0,1187 Mittel 0,1194	4,776	19,40
C	23,00	30	a) 0,1062 b) 0,1070 Mittel 0,1066	4,265	18,68
D	24,17	40	a) 0,1097 b) 0,1089 Mittel 0,1093	4,372	18,09

Tabelle IV.

(Übersichtstabelle von Tabelle III.)

Veränderung des Fettgehaltes in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petroläthers %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	20,50	100,00	0
B	15	19,40	94,63	— 5,37
C	30	18,68	91,12	— 8,98
D	40	18,09	88,24	— 11,76

Tabelle V.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 2.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung. (Alle Proben auf je 2 l aufgefüllt.)	Gesamte Menge des Petrolätherextraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	27,34	0	a) 0,1369 b) 0,1377 Mittel 0,1373	5,493	20,11
B	25,25	15	a) 0,1256 b) 0,1257 Mittel 0,1257	5,028	19,90
C	28,22	30	a) 0,1368 b) 0,1362 Mittel 0,1365	5,461	19,36
D	27,09	40	a) 0,1268 b) 0,1284 Mittel 0,1276	5,107	18,85

Tabelle VI.

(Übersichtstabelle von Tabelle V.)

Veränderung des Fettgehaltes in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petroläthers %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	20,11	100,00	0
B	15	19,90	98,96	— 1,04
C	30	19,36	96,27	— 3,73
D	40	18,85	93,72	— 6,28

Wie aus den beiden Übersichtstabellen IV und VI leicht ersichtlich ist, nahm der Fettgehalt der Käsestücke im Verlaufe der Reifung an der Luft stets ab, und zwar um so mehr, je länger die Zeit der Aufbewahrung dauert. So nahm im Versuch 1 die Menge des Petrolätherextraktes im Vergleiche mit der Kontrolle A nach 15 Tagen um 5,37%, nach 30 Tagen um 8,98% und nach 40 Tagen um 11,76% ab; im Versuch 2 betrug die Fettabnahme nach 15 Tagen 1,04%, nach 30 Tagen 3,73% und nach 40 Tagen 6,28%. Warum in den beiden

Versuchen ein merklicher Unterschied im Grade der Fettabnahme zutage trat, läßt sich nicht erklären. Es könnten hierbei verschiedene Momente zusammen mitgewirkt haben, wie die Verschiedenheit der Käsekonsistenz je nach der Zubereitung, Temperaturschwankung bei der Prüfung usw.

Um zu sehen, wie sich die Fettabnahme bei kürzerer Reifungsdauer innerhalb von 10 Tagen verhält, habe ich noch einen Versuch (3) angestellt.

Tabelle VII.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung von kürzerer Dauer an der Luft
Versuch 3.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petroläther-extraktes in je 50 ccm Käselösung. (Alle Proben auf je 2 l aufgefüllt.)	Gesamte Menge des Petroläther-extraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	24,19	0	a) 0,1221 b) 0,1228 Mittel 0,1225	4,900	20,20
B	26,95	3	a) 0,1345 b) 0,1350 Mittel 0,1348	5,393	20,00
C	24,83	7	a) 0,1270 b) 0,1281 Mittel 0,1276	5,105	20,59
D	25,50	10	a) 0,1286 b) 0,1277 Mittel 0,1282	5,129	20,90

Tabelle VIII.

(Übersichstabelle von Tabelle VII.)

Veränderung des Fettgehaltes in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petroläthers %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Zu- oder Abnahme des Fettgehaltes im Verlaufe der Reifung
A (Kontrolle)	0	20,20	100,00	0
B	3	20,00	99,00	− 1,00
C	7	20,59	101,93	+ 1,93
D	10	20,10	99,50	− 0,50

Wie die Übersichtstabelle VIII beleuchtet, konnte ich innerhalb von 10 Tagen keine merkliche Abnahme des Fettes bei der Reifung an der Luft konstatieren. Bei 7tägiger Reifungsdauer (C) fand sogar eine Zunahme des Petroläther-extraktes um 1,93% statt. Da dies ein einziger Fall der positiven Bilanz darstellt, so halte ich es unbedingt für richtiger, diesen Befund auf irgendeinen technischen Fehler zurückzuführen, als eine so geringfügige Fettneubildung anzunehmen.

In den vorhergehenden Versuchen habe ich als Fettwert des Käses ausschließlich die Menge des Petrolätherextraktes verglichen. Obwohl dieses Vorgehen nach den bisherigen zahlreichen Erfahrungen im hiesigen Laboratorium bei der Analyse der Gehirnsubstanz zweifellos als berechtigt anzusehen ist, habe ich doch in den beiden folgenden Versuchen zur sicheren Beweisführung für die Richtigkeit der Methode von allen Petrolätherextrakten hochmolekulare Fettsäuren von den unverseifbaren Substanzen getrennt und die ersteren in Vergleich gestellt. Die Resultate sind in den Tabellen IX bis XII zusammengestellt.

Tabelle IX.

Gehalt der hochmolekularen Fettsäuren bei der Reifung des Käses an der Luft.

Versuch 4.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung. (A, B u. D auf 2 l, C auf 1 l aufgefüllt.)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	31,71	0	a) 0,1924 b) 0,1942 Mittel 0,1933	7,734	24,39
B	32,32		a) 0,1983 b) 0,1980 Mittel 0,1982	7,929	24,62
C	34,68	10	a) 0,2065 b) 0,2076 Mittel 0,2071	8,285	23,89
D	28,69	15	a) 0,1658 b) 0,1674 Mittel 0,1666	6,665	23,21

Tabelle X.

(Übersichtstabelle von Tabelle IX.)

Veränderung der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich d. hochmolekularen Fettsäuren zueinander (A als 100)	Prozentische Zu- oder Abnahme der hochmolekularen Fettsäuren im Verlaufe der Reifung
A (Kontrolle)	0	24,39	100,00	0
B	5	24,62	100,90	+ 0,90
C	10	23,89	97,95	— 2,05
D	15	23,21	95,16	— 4,84

Tabelle XI.

Gehalt der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung. (A, B u. C auf 2 l, D_1 u. D_2 auf 1 l aufgefüllt.)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	30,91	0	a) 0,1944 b) 0,1953 Mittel 0,1949	7,796	25,21
B	28,37	5	a) 0,1785 b) 0,1776 Mittel 0,1781	7,124	25,11
C	26,18	10	a) 0,1640 b) 0,1629 Mittel 0,1635	6,540	24,98
D D_1	16,22	15	a) 0,2069 b) 0,2076 Mittel 0,2073	4,146	24,24
D D_2	17,10	30	a) 0,1932 b) 0,1936 Mittel 0,1934	3,868	22,63

Die beiden Versuche haben die Richtigkeit der bereits gewonnenen Resultate vollkommen bestätigt. Auch hier war die Fettabnahme innerhalb 10 tägiger Reifungsdauer nicht sicher festzustellen, die Bilanz blieb unter 1%, und zwar bald nach der negativen, bald nach der positiven Seite schwankend. Dagegen betrug die Fettabnahme bei 15 tägiger Reifungsdauer 3,85 bis 4,84% und bei 30 tägiger Dauer 10,24%.

Tabelle XII.

(Übersichtstabelle von Tabelle XI.)

Veränderung der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben im Verlaufe der Reifung an der Luft.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich d. hochmolekularen Fettsäuren zueinander (A als 100)	Abnahme der hochmolekularen Fettsäuren im Verlaufe der Reifung %
A (Kontrolle)	0	25,21	100,00	0
B	5	25,11	99,60	— 0,40
C	10	24,98	99,01	— 0,99
D D_1	15	24,24	96,15	— 3,85
D D_2	30	22,63	89,76	— 10,24

Nachstehend seien die Gesamtergebnisse der vorhergehenden Untersuchungen nochmals in einer Übersichtstabelle zusammengestellt.

Tabelle XIII.

Generaltabelle über die Veränderung des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses an der Luft.

Nummer der Versuche	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Fettes %	Prozentischer Vergleich des Fettes zueinander (A als 100)	Veränderung des Fettgehaltes im Verlaufe der Käsereifung %
1 A	0 (Kontrolle)	20,50	100,00	0
B	15	19,40	94,63	— 5,37
C	30	18,68	91,12	— 8,98
D	40	18,09	88,24	— 11,76
2 A	0 (Kontrolle)	20,11	100,00	0
B	15	19,90	98,96	— 1,04
C	30	19,36	96,27	— 3,73
D	40	18,85	93,72	— 6,28
3 A	0 (Kontrolle)	20,20	100,00	0
B	3	20,00	99,00	— 1,0
C	7	20,59	101,93	+ 1,93
D	10	20,10	99,50	— 0,50
4 A	0 (Kontrolle)	24,39	100,00	0
B	5	24,62	100,90	+ 0,90
C	10	23,89	97,95	— 2,05
D	15	23,21	95,16	— 4,84
5 A	0 (Kontrolle)	25,21	100,00	0
B	5	25,11	99,60	— 0,40
C	10	24,98	99,01	— 0,99
D D_1	15	24,24	96,15	— 3,85
D D_2	30	22,63	89,76	— 10,24

In den Versuchen 1, 2, 3 ist die Menge des Petroläther-extraktes und in Versuchen 4, 5 die Menge der hochmolekularen Fettsäuren als Fett bezeichnet.

Hauptergebnisse zum Kapitel I.

Das Milchfett fällt bei der Reifung des Käses in der Luft der Zersetzung anheim und nimmt mit der Dauer der Reifung immer an Menge ab, gleichgültig ob die Fettmenge als Petroläther-extrakt oder als hochmolekulare Fettsäuren bestimmt wird. Die Abnahme des Fettes fängt meist vom 10. Tage der Reifungsdauer an, bald noch früher, bald etwas später. In keinem Falle wurde eine sichere Vermehrung des Fettes im Verlaufe der Reifung beobachtet. Bemerkt sei noch der Umstand, daß der Käse verschiedener Serien der Zubereitung in verschiedenem Grade die Abnahme seines Fettes zeigt. Worauf läßt sich nun der fettabnehmende Vorgang des Käses bei der Reifung in der Luft zurückführen? Bevor ich auf diese Frage eingehe, schicke ich einige Bemerkungen über die Veränderung des Käses während der Aufbewahrung in der Luft voraus. Wenn der unreife Käse an der Luft steht, so beginnt eine Vegetation der Schimmelpilze auf der Oberfläche desselben. Sie tritt bald früh, bald spät auf. So wachsen die Pilze manchmal schon am 10. bis 15. Tage üppig, unter Umständen aber selbst nach 20 Tagen nur spärlich. Der Käse wird bei der Reifung in der Luft allmählich bräunlich und zuerst mit einigen Pilzkolonien besät. Hieraus werden sehr bald fadenförmige Pilzrasen sichtbar, die sich nach und nach vermehren und schließlich die ganze Oberfläche des Käses bedecken. Der Grad der Abnahme des Fettes entspricht beinahe dem Wachstum der Schimmelpilze. Demnach liegt hier kein Zweifel vor, daß sich die fettzehrende Wirkung der Schimmelpilze, die zuerst von Kumagawa und Ohta im Muskelpulver festgestellt wurde, bei der Reifung des Käses ebenfalls entfaltet. Ob noch andere Aeroben außer den Schimmelpilzen mitwirken, lasse ich zurzeit dahingestellt.

In den folgenden Versuchen habe ich versucht, auf verschiedene Weise festzustellen, wie sich der Befund des Milchfettes und der Reifungsprozeß des Käses bei der Abwesenheit von Schimmelpilzen verhält.

Kapitel II.

Untersuchungen über den mit Paraffin überzogenen und in der Luft aufbewahrten Käse.

Um die Entwickelung von Schimmelpilzen auszuschalten, habe ich in diesen Versuchen unreifen Käse mit Paraffin überzogen und denselben an der Luft zur Reifung aufbewahrt. Obwohl diese Versuche unseren Zweck nicht erfüllten, so halte ich die hieraus gewonnenen Daten in manchen Punkten doch für erwähnenswert.

a) Vorbereitung des Ausgangsmaterials: Nachdem die unreifen Käsestücke (A, B, C, D) auf die erwähnte Weise dargestellt und ihre Gewichte genau festgestellt worden sind, werden sie nacheinander folgendermaßen behandelt. Man legt jedes Käsestück auf ein gabelförmig gebogenes Glasstäbchen, auf dessen Biegungsstelle ein zweites Glasstäbchen in senkrechter Richtung eingeschmolzen ist. Mit dem freien Ende des letzteren gehalten, wird das ganze Stück vollkommen in ein reines Paraffinbad bei 60° hineingetaucht und rasch wieder herausgenommen, wobei die Paraffinschicht nach kurzer Zeit zu einer dünnen Haut erstarrt und das Käsestück gleichmäßig umhüllt. A wird sofort, B, C und D nach verschiedener Zeit auf ihren Fettgehalt untersucht.

b) Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käsestückes: Da das Paraffin leicht in Äther bzw. Petroläther übergeht, so bot uns hier die exakte Fettbestimmung ohne Beimengung von Paraffin allerdings große Schwierigkeiten. Nach vielen besonderen Versuchen wurde schließlich eine einwandfreie Trennung auf folgende Weise erzielt: Eine gewisse, genau bekannte Menge von Fettsäure und Paraffin wird zusammen in Petroläther aufgelöst. Die Lösung wird in einen Scheidetrichter (A) hineingetan und durch Ausspülung mit Petroläther auf ca. 70 ccm gebracht. Hierzu werden 20 ccm 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge gegeben und tüchtig geschüttelt. Nach etwa 10 Minuten gießt man die untere alkoholwässerige Schicht von der unteren Öffnung in einen zweiten Scheidetrichter (B) ab. Die zurückgebliebene Petrolätherlösung in A wird nochmals mit 10 ccm 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge versetzt, gut geschüttelt und die untere

Schicht nach 10 Minuten wieder in B abgegossen. Diese Prozedur wird zum drittenmal unter Zusatz von 10 ccm 50%igen Alkohols ohne Kaligehalt wiederholt. Jetzt gießt man die Petrolätherlösung in A von der oberen Öffnung in ein Becherglas ab, spült den Trichter dreimal mit ein wenig Petroläther gut aus und stellt den so gut gereinigten leeren Trichter unter B. Nun wird die in B vereinigte alkoholwässerige Lösung mit 70 ccm Petroläther versetzt und gut geschüttelt. Nach 10 Minuten wird die untere alkoholwässerige Schicht in A abgegossen. Man wiederholt dieselbe Prozedur noch zweimal, und zwar einmal unter Zusatz von 10 ccm 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge, und ein anderes Mal unter Zusatz von 10 ccm 50%igen Alkohols ohne Alkaligehalt, wobei die untere alkoholwässerige Lösung immer in A hineingebracht wird, während die Petrolätherlösung in B bleibt. Auf diese Weise wird das Paraffin (und unverseifbare Substanzen in den eigentlichen Versuchen) quantitativ getrennt in Petroläther aufgenommen. Die auf diese Weise vollkommen von Paraffin befreite Fettsäure, die im Scheidetrichter als Seifenlösung enthalten ist, wird durch Säurezusatz in Freiheit gesetzt, mit Petroläther aufgenommen, gereinigt und gewogen. Zu diesem Zwecke fügt man zu der Seifenlösung 5 ccm konzentrierter Salzsäure, dann 70 ccm Petroläther hinzu, und der Trichter wird gut geschüttelt. Nach 10 Minuten wird die untere alkoholwässerige Schicht in den gereinigten Scheidetrichter hineingebracht. Die Petrolätherlösung wird in ein reines Becherglas aufgenommen. Der Scheidetrichter wird einigemal mit ein wenig Petroläther gewaschen und im Becherglas vereinigt. Die alkoholwässerige Lösung behandelt man noch zweimal mit 50 ccm Petroläther wie oben. Nun wird die im Becherglas vereinigte Petrolätherlösung unter Ventilation verdunstet. Der Rückstand wird nochmals in Petroläther aufgelöst und durch ein Asbestfilter in ein gewogenes Becherglas abfiltriert. Das Filtrat wird nun unter Ventilation verdunstet, der Rückstand eine Stunde im Vakuum bei 50° getrocknet und schließlich im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz aufbewahrt.

Nachstehend sind die Ergebnisse dieser Extraktionsversuche angeführt.

Versuch 1.

Vor dem Versuch	Die Menge der angewendeten Fettsäure . .	0,2345 g
	Zugesetztes Paraffin	0,1000 g
Nach dem Versuch	Gewogener Petrolätherextrakt	0,2352 g

Versuch 2.

Vor dem Versuch	Die Menge der angewendeten Fettsäure . .	0,1892 g
	Zugesetztes Paraffin	0,0625 g
Nach dem Versuch	Gewogener Petrolätherextrakt	0,1890 g

Versuch 3.

Vor dem Versuch	Die Menge der angewendeten Fettsäure . .	0,1529 g
	Zugesetztes Paraffin	0,0520 g
Nach dem Versuch	Gewogener Petrolätherextrakt	0,1538 g

Versuch 4.

Vor dem Versuch	Die Menge der angewendeten Fettsäure . .	0,2132 g
	Zugesetztes Paraffin	0,1261 g
Nach dem Versuch	Gewogener Petrolätherextrakt	0,2110 g

Die oben angeführten vier Extraktproben haben zur Genüge erwiesen, daß das gewogene Petrolätherextrakt mit der Menge der angewendeten Fettsäure in allen Versuchen sehr gut übereinstimmt.

c) Fettbestimmung des mit Paraffin überzogenen Käses: Wegen der zu großen Menge Paraffin und Fettsäure in einem Käsestücke habe ich dasselbe zuerst nach der unten zu besprechenden Methode behandelt und erst dann den Paraffinrest auf die oben angegebene Weise von der Fettsäure befreit. Das in einem Becherglas unter Zusatz des 10 fachen Volumens $2\,^0/_0$iger Natronlauge durch 2stündiges Kochen aufgelöste Käsestück wird noch in der Wärme in einen Scheidetrichter hineingebracht und einige Minuten stehen gelassen. Das gelöste Paraffin trennt sich bald von der Wasserlösung, sammelt sich nach oben und bildet eine klare Schicht für sich. Dann gießt man die wässerige Schicht vorsichtig von der unteren Öffnung des Scheidetrichters in ein großes Becherglas ab. Das erste Becherglas wird mit heißem Wasser gut gewaschen und das Waschwasser in den Scheidetrichter gebracht, wobei der geronnene Paraffinrest wieder in Lösung geht und im Scheidetrichter die

obere Schicht bildet. Nach einigen Minuten wird die wässerige Schicht wieder in das Becherglas abgegossen. Auf diese Weise wird das Auswaschen und die Trennung des Paraffinrestes mehrmals wiederholt, bis die wässerige Schicht ganz klar aussieht und keine Opalescenz mehr zeigt. Die im Becherglas vereinigte Flüssigkeit wird nochmals erwärmt und derselben Prozedur unterworfen wie oben.

Tabelle XIV.

Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käsematerials vor der Reifung.

(Kontrollversuche.)

Nummer der Versuche	Art und Menge der einzelnen Proben		Menge des Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung. (Alle Proben auf 1 l, nur A u. B des Versuchs 1 auf 2 l aufgefüllt.)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den einzelnen Proben	
		g		g	%
1	A	25,01	a) 0,1290 b) 0,1314 Mittel 0,1302	5,207	20,82
	B	24,32	a) 0,1238 b) 0,1254 Mittel 0,1248	4,989	20,51
	C	26,51	a) 0,2713 b) 0,2694 Mittel 0,2704	5,408	20,40
	D	25,82	a) 0,2716 b) 0,2636 Mittel 0,2676	5,352	20,73
2	A	20,56	a) 0,2273 b) 0,2260 Mittel 0,2267	4,533	22,05
	B	21,68	a) 0,2379 b) 0,2352 Mittel 0,2366	4,732	21,82
	C	19,32	a) 0,2142 b) 0,2147 Mittel 0,2145	4,289	22,20
	D	22,56	a) 0,2489 b) 0,24 5 Mittel 0,2477	4,952	21,95

Auch in diesem Falle bleibt mehr oder minder Paraffin im Scheidetrichter in geringer Menge zurück. Man gießt nun die wässerige Lösung in einen Meßkolben von 1 bis 2 l hinein und füllt denselben mit heißem Wasser bis zur Marke auf. Die Abpipettierung des aliquoten Teils, nochmalige Verseifung desselben usw. bis zur Wägung des gewonnenen Petroläther-extraktes nach Kumagawa-Suto geschieht genau ebenso, wie es früher schon beschrieben worden ist; das so behandelte Petroläther-extrakt enthält immer noch eine minimale Menge des Paraffinrestes. Zur Entfernung dieser letzten Spur Paraffins wird nun das oben beschriebene umständliche Verfahren verwendet. Die Resultate der Untersuchungen, die für die Zuverlässigkeit der Methode vollkommen beweiskräftig sind, sind in den Tabellen XIV und XV verzeichnet.

Tabelle XV.

(Übersichtstabelle von Tabelle XIV.)

Prozentische Differenz des Fettgehaltes in den einzelnen Kontrollproben.

Nummer der Versuche	Art der einzelnen Proben	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich der hochmolekularen Fettsäuren zueinander (A als 100)	Prozentische Differenz des Fettgehaltes in den einzelnen Proben
1	A	20,82	100,00	0
	B	20,51	98,51	− 1,49
	C	20,40	97,98	− 2,02
	D	20,73	99,56	− 0,44
2	A	22,05	100,00	0
	B	21,82	98,96	− 1,04
	C	22,20	100,68	+ 0,32
	D	21,95	99,55	− 0,45

In Versuch 1 schwankt der Fettgehalt der einzelnen Käsestücke zwischen 20,40% und 20,82%, A als 100 gesetzt, betragen B 98,51%, C 97,98%, D 99,5%; demgemäß ist die größte Differenz, die zwischen A und C besteht, 2,02%, die kleinste zwischen A und D 0,44%. In Versuch 2 betragen, A als 100% gesetzt, B 98,96%, C 100,68%, D 99,55%. Die Differenz zwischen B und C beträgt 98,96%, C 100,68%,

D 99,55%. Die Differenz zwischen B und C beträgt demnach 1,72%, was in diesem Versuch den größten Unterschied an Fettmenge bezeichnet; die kleiste Differenz zwischen B und D in diesem Versuch ist fast ebenso wie in Versuch 1 und beträgt 0,45%. Da die größte Differenz in Versuch 1 nicht über 2,02% und in Versuch 2 nicht über 1,72% hinausgeht, so ist man wohl berechtigt anzunehmen, daß das mit Paraffin überzogene Material ebenfalls für die Fettbestimmung zuverlässige Resultate liefere. Auf Grund dieser Vorversuche bin ich zu den eigentlichen Versuchen mit Paraffinüberzug geschritten. Ich habe in 4 Serien die mit Paraffin überzogenen Käsestücke verschieden lange (5 bis 10 Tage) in der Luft aufbewahrt und dann die Fettbestimmung gemacht. Zu meiner großen Überraschung war in diesen Untersuchungen die Abnahme des Fettgehaltes im Verlaufe der Reifung ebenso stark, ja unter Umständen sogar noch stärker, wie in Kapitel 1. Im folgenden habe ich die Ergebnisse und einzelnen Daten dieser Untersuchungen in Tabellen zusammengestellt.

Tabelle XVI.

Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 1.

Art und Menge der Versuche		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (A, C, D auf 2 l, B auf 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	23,33	0	a) 0,1249 b) 0,1262 Mittel 0,1256	5,448	21,53
B	26,27	5	a) 0,2768 b) 0,2762 Mittel 0,2765	5,530	21,05
C	27,30	15	a) 0,1369 b) 0,1354 Mittel 0,1362	5,448	19,95
D	23,76	30	a) 0,1162 b) 0,1176 Mittel 0,1169	4,677	19,69

Tabelle XVII.

(Übersichtstabelle von Tabelle XVI.)

Abnahme des Fettgehaltes des mit Paraffin überzogenen Käses im Verlaufe der Reifung.

Art der einzelnen Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Fettes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	22,52	100,00	0
B	5	22,02	97,77	−2,23
C	15	20,87	92,66	−7,34
D	30	20,60	91,45	−8,55

Tabelle XVIII.

Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 2.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 2 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	28,06	0	a) 0,1564 b) 0,1580 Mittel 0,1572	6,290	22,42
B	26,84	15	a) 0,1485 b) 0,1472 Mittel 0,1479	5,917	22,05
C	28,15	30	a) 0,1475 b) 0,1453 Mittel 0,1464	5,859	20,81
D	29,30	60	a) 0,1480 b) 0,1490 Mittel 0,1485	5,941	20,28

Tabelle XIX.

(Übersichtstabelle von Tabelle XVIII.)

Abnahme des Fettgehaltes des mit Paraffin überzogenen Käses im Verlaufe der Reifung.

Art der einzelnen Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Fettes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	23,45	100,00	0
B	15	23,06	98,35	− 1,65
C	30	21,77	92,82	− 7,18
D	60	21,21	90,45	− 9,55

Tabelle XX.

Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 3.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 2 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	17,71	0	a) 0,1743 b) 0,1750 Mittel 0,1747	3,493	19,72
B	19,95	30	a) 0,1868 b) 0,1860 Mittel 0,1864	3,725	18,68
C	18,95	45	a) 0,1754 b) 0,1738 Mittel 0,1746	3,491	18,42
D	20,21	60	a) 0,1885 b) verloren	3,770	18,65

Tabelle XXI.

(Übersichtstabelle von Tabelle XX.)

Abnahme des Fettgehaltes des mit Paraffin überzogenen Käses im Verlaufe der Reifung.

Art der einzelnen Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Fettes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	20,63	100,00	0
B	30	19,54	94,72	− 5,28
C	45	19,27	93,41	− 6,59
D	60	19,51	94,57	− 5,43

Tabelle XXII.

Fettgehalt des mit Paraffin überzogenen Käses bei der Reifung an der Luft.

Versuch 4.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 2 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	22,53	0	a) 0,1290 b) 0,1268 Mittel 0,1279	5,113	22,70
B	22,99	10	a) 0,1271 b) verloren	5,083	22,11
C	21,11	30	a) 0,1145 b) 0,1151 Mittel 0,1148	4,592	20,77
D	21,87	40	a) 0,1101 b) 0,1119 Mittel 0,1110	4,437	20,29

Tabelle XXIII.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXII.)

Abnahme des Fettgehaltes des mit Paraffin überzogenen Käses im Verlaufe der Reifung.

Art der einzelnen Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Fettes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	23,74	100,00	0
B	10	23,13	97,41	— 2,59
C	30	21,73	91,49	— 8,51
D	40	21,22	89,25	— 10,75

Tabelle XXIV.

Übersichtstabelle über die Veränderung des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses an der Luft mit oder ohne Paraffinüberzug.

Dauer der Aufbewahrung Tage	Veränderung des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in Prozenten	
	Reifung des Käses an der Luft ohne Paraffinüberzug	Reifung des Käses an der Luft mit Paraffinüberzug
3	Versuch 3 B — 1,00	—
5	Versuch 4 B + 0,90 „ 5 B — 0,40	Versuch 1 B — 2,23
7	Versuch 3 C + 1,93	—
10	Versuch 3 D — 0,50 „ 4 C — 2,05 „ 5 C — 0,99	Versuch 4 B — 2,59
15	Versuch 1 B — 5,37 „ 2 B — 1,04 „ 4 D — 4,84 „ 5 D1 — 3,85	Versuch 1 C — 7,34 „ 2 B — 1,65
30	Versuch 1 C — 8,98 „ 2 C — 3,73 „ 5 D2 — 10,24	Versuch 1 D — 8,55 „ 2 C — 7,18 „ 3 B — 5,28 „ 4 C — 8,51
40	Versuch 1 D — 11,76 „ 2 D — 6,28	Versuch 4 D — 10,75
45	—	Versuch 3 C — 6,59
60	—	Versuch 2 D — 9,55 „ 3 D — 5,43

Es hat sich hier ebenfalls herausgestellt, daß die Fettabnahme in derselben Serie mit der Aufbewahrungsdauer immer zunimmt, daß der Grad der Abnahme indessen in verschiedenen Serien je nach dem Ausgangsmaterial wesentlich variiert. Um dieses Verhalten übersichtlich zu beleuchten, habe ich die bisherigen sämtlichen Versuche mit oder ohne Paraffinüberzug, die die Fettabnahme verzeichneten, in Tabelle XXIV vereinigt.

Ein Blick auf die Übersichtstabelle zeigt, daß hinsichtlich der Fettabnahme des Käses bei der Reifung an der Luft mit oder ohne Paraffinüberzug kein merklicher Unterschied vorhanden ist. Allem Anschein nach gelangt die Luft durch die dünne Paraffinhaut auf die Pilzkeime und läßt dieselben sich entwickeln, wenn auch nicht so günstig wie bei ungehindertem Luftzutritt. Es interessierte mich nun, zu sehen, wie sich der Reifungsprozeß und der Fettbefund des Käses verhält, wenn der Zutritt des Luftsauerstoffes ganz abgeschnitten und somit das Wachstum von Aeroben ausgeschlossen wird. Zu diesem Zwecke habe ich zunächst den unreifen Käse im Kohlensäureraum aufbewahrt.

Kapitel III.

Untersuchungen über den in Kohlensäuregas aufbewahrten Käse.

Versuchsanordnung. Eine große Glasglocke wird auf eine rundliche Glasscheibe gestellt, die in der Mitte eine kleine Öffnung besitzt. Hiermit ist eine Kupferröhre mit einem Hahn luftdicht verbunden. Man bringt darin Bechergläser mit den zu untersuchenden Käsestücken hinein und schließt die Berührungsfläche der Glasglocke mit der Scheibe mittels Paraffin luftdicht. Nachdem der innere Raum mittels der Wasserstrahlpumpe evakuiert worden ist, wird derselbe mit Kohlensäuregas gefüllt, das im Gasometer aufbewahrt ist. Der innere Raum der Glocke wird während der Versuche wiederholt evakuiert und dann mit frischem Kohlensäuregas gefüllt, damit das unbeabsichtigte Eindringen der Luft ganz beseitigt wird. Die Methode der Fettbestimmung und das sonstige Verfahren geschah genau ebenso wie vorher. Die Resultate und alle einzelnen Daten sind in den folgenden Tabellen eingetragen.

Tabelle XXV.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Versuch 1.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	30,35	0	a) 0,3396 b) 0,3405 Mittel 0,3401	6,80	22,39
B	33,08	10	a) 0,3752 b) 0,3738 Mittel 0,3745	7,49	22,16
C	31,23	20	a) 0,3516 b) 0,3510 Mittel 0,3513	7,03	22,50
D	32,37	30	a) 0,3598 b) 0,3587 Mittel 0,3593	7,19	22,20

Tabelle XXVI.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXV.)

Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petrolätherextraktes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung d. Käses %
A (Kontrolle)	0	22,39	100,00	0
B	10	22,16	99,00	−1,0
C	20	22,50	100,50	+0,5
D	30	22,20	99,20	−0,8

In den Versuchen 1 und 2 wurde der Fettgehalt als Petrolätherextrakt und in den Versuchen 3 und 4 als hochmolekulare Fettsäure bestimmt. Die beiden Werte stimmen sehr gut überein; dies gibt uns wiederum einen Beweis dafür, daß unsere Fettbestimmungsmethode einwandfrei ist. Im 1. Versuch hat die Menge des Petrolätherextraktes nach 30 Tagen um 0,8% (D) und nach 10 Tagen um 1,0% (B) abgenommen, während C nach

Tabelle XXVII.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Versuch 2.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 2 l aufgefüllt)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	22,29	0	a) 0,0936 b) 0,0940 Mittel 0,0938	3,75	16,84
B	18,91	19	a) 0,0784 b) 0,0787 Mittel 0,0786	3,14	16,63
C	21,50	30	a) 0,0897 b) 0,0892 Mittel 0,0895	3,58	16,65
D	18,47	40	a) 0,0758 b) 0,0759 Mittel 0,0759	3,04	16,43

Tabelle XXVIII.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXVII.)

Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petrolätherextraktes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses %
A (Kontrolle)	0	16,84	100,00	0
B	19	16,63	98,70	− 1,3
C	30	16,65	98,90	− 1,1
D	40	16,43	97,50	− 2,5

20 Tagen im Gegenteil eine Zunahme des Fettwertes um 0,5 % zeigte, Resultate, die wohl sämtlich als innerhalb der Fehlergrenze liegend anzusehen sind. Im 2. Versuche blieb das Verhältnis des Fettbefundes annähernd gleich wie im 1. Versuche; nur bei D, wo der Käse 40 Tage lang aufbewahrt worden ist, wurde eine etwas größere Abnahme des Petrolätherextraktes von 2,5 % gefunden.

Tabelle XXIX.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in CO_2-Atmosphäre.
Versuch 3.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g			g	%
A (Kontrolle)	18,02	0	a) 0,2012 b) 0,2017 Mittel 0,2015	4,024	22,33
B	17,65	10	a) 0,1977 b) 0,1983 Mittel 0,1980	3,967	22,44
C	20,50	30	a) 0,2291 b) 0,2292 Mittel 0,2292	4,581	22,36
D	Verloren				

Tabelle XXX.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXIX.)
Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung d. Käses %
A (Kontrolle)	0	22,33	100,00	0
B	10	22,44	100,54	+ 0,54
C	30	22,36	100,09	+ 0,09
D	Verloren			

Im 3. Versuche war das Ergebnis etwas anders, indem die Fettsäure nach 10 Tagen um 0,54% (B) und nach 30 Tagen um 0,09% (C) zugenommen hatte. Dem stand das Resultat des 4. Versuches gegenüber. Hier wurde in allen 3 Käsestücken mehr oder minder eine Abnahme des Fettwertes verzeichnet, und zwar nach 8 Tagen um 0,36% (B), nach 30 Tagen um 0,89% (C) und nach 95 Tagen um 1,51% (D). Die Versuche 2 und 4, in denen alle Fettwerte im Vergleich mit den Kontrollproben (A) mehr oder minder nach der negativen Seite schwankten, sind wohl richtiger so aufzufassen, daß trotz an-

Tabelle XXXI.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in CO_2-Atmosphäre.
Versuch 4.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben a. je 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmolekularen Fettsäuren in den einzelnen Proben	
	g			g	%
A (Kontrolle)	17,95	0	a) 0,2020 b) 0,2030 Mittel 0,2025	4,051	22,56
B	18,43	8	a) 0,2067 b) 0,2074 Mittel 0,2071	4,141	22,48
C	19,06	30	a) 0,2135 b) 0,2126 Mittel 0,2131	4,262	22,36
D	19,14	95	a) 0,2121 b) 0,2128 Mittel 0,2125	4,247	22,22

Tabelle XXXII.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXXI.)
Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in CO_2-Atmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses %
A (Kontrolle)	0	22,56	100,00	0
B	8	22,48	99,64	— 0,36
C	30	22,36	99,11	— 0,89
D	95	22,22	98,49	— 1,51

scheinend gleichgroßer Vorsicht doch spärliche Schimmelpilze zum Wachstum gelangten. Als Gesamtresultat dieser 4 Versuche ist der Schluß ohne Zweifel berechtigt, daß der Fettgehalt des Käses beim Reifen im sauerstofffreien Raume weder zu- noch abnimmt, also gar keine Veränderung erleidet. Um die Richtigkeit dieses Befundes noch auf andere Weise zu prüfen, habe ich im folgenden unreifen Käse in Wasserstoffgas aufbewahrt.

Kapitel IV.

Untersuchungen über den in Wasserstoffgas aufbewahrten Käse.

Zur Erklärung der Versuchsanordnung ist nichts hinzuzufügen, als daß der innere Raum der Glasglocke nach der Evakuation anstatt mit Kohlensäuregas mit dem im Gasometer aufbewahrten gereinigten Wasserstoffgas gefüllt wurde. Das Ergebnis dieser Versuche ist fast ebenso eklatant wie in Kapitel III, wie dies die Tabellen XXXIII bis XXXVI zeigen.

Tabelle XXXIII.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in einer Wasserstoffatmosphäre. Versuch 1.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge des Petroläther-extraktes in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf je 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge des Petroläther-extraktes in d. einzeln. Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	17,13	0	a) 0,1484 b) 0,1501 Mittel 0,1493	2,986	17,44
B	16,32	15	a) 0,1409 b) 0,1409 Mittel 0,1409	2,817	17,26
C	17,52	30	a) 0,1474 b) 0,1467 Mittel 0,1471	3,006	17,18
D	17,36	75	a) 0,1485 b) 0,1497 Mittel 0,1491	2,982	17,22

Tabelle XXXIV.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXXIII.)

Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in einer Wasserstoffatmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge des Petroläther-extraktes %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zu-einander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	17,44	100,00	0
B	15	17,26	98,97	−1,03
C	30	17,18	98,51	−1,49
D	75	17,22	98,73	−1,27

Tabelle XXXV.

Fettgehalt des Käses bei der Reifung in einer Wasserstoffatmosphäre.

Versuch 2.

Art und Menge der einzelnen Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge der hochmolekularen Fettsäuren in je 50 ccm Käselösung (alle Proben auf je 1 l aufgefüllt)	Gesamtmenge der hochmol. Fettsäuren in d. einzeln. Proben	
	g	Tage		g	%
A (Kontrolle)	16,22	0	a) 0,1641 b) 0,1644 Mittel 0,1643	3,286	20,26
B	16,23	10	a) 0,1625 b) 0,1619 Mittel 0,1622	3,256	20,07
C	15,00	20	a) 0,1499 b) 0,1497 Mittel 0,1498	2,996	19,92
D	16,79	30	a) 0,1680 b) 0,1683 Mittel 0,1682	3,363	20,03

Tabelle XXXVI.

(Übersichtstabelle von Tabelle XXXV.)

Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes des Käses im Verlaufe der Reifung in einer Wasserstoffatmosphäre.

Art der Proben	Dauer der Aufbewahrung Tage	Menge der hochmolekularen Fettsäuren %	Prozentischer Vergleich des Fettgehaltes zueinander (A als 100)	Prozentische Abnahme des Fettgehaltes bei der Reifung des Käses
A (Kontrolle)	0	20,26	100,00	0
B	10	20,07	99,06	— 0,94
C	20	19,07	98,32	— 1,68
D	30	20,03	98,86	— 1,14

Im 1. Versuch hat der Fettwert nach 75 Tagen um 1,27% (D) abgenommen. Diese Zahl ist nicht viel größer als nach 15 Tagen (B) und etwas kleiner als nach 30 Tagen (C). Ein ganz ähnliches Resultat ergab der 2. Versuch, indem die Abnahme bei D um 0,1% größer als bei B, und um 0,54% kleiner als bei C war. Solche kleinen Schwankungen beweisen nicht die eigentliche Abnahme der Fettmenge, sondern können

als die von der Herstellung des Käses herrührende Differenz des Fettgehaltes betrachtet werden. Allerdings ist die Möglichkeit, wie oben gesagt, nicht ausgeschlossen, daß die Luft, wenn auch in geringer Menge, ins Innere der Glasglocke hineindrang und so mit den Pilzkeimen in Berührung kam. Es könnten noch wahrscheinlicher die beiden Momente zur Hervorbringung jener geringfügigen Fettabnahme zusammen mitgewirkt haben. Unter allen Umständen geht aus den Versuchen mit Kohlensäure- und Wasserstoffgas unzweifelhaft hervor, daß bei der Reifung des Käses im sauerstofffreien Raume, also bei Abwesenheit von Aëroben, insbesondere von Schimmelpilzen, der Fettgehalt desselben weder zu- noch abnimmt. Nun ist bis jetzt ganz stillschweigend vorausgesetzt worden, daß sich der Reifungsprozeß des Käses im sauerstofffreien Raum ebenso gut vollzieht wie an der offenen Luft. Wäre dies nicht der Fall, so schwebt die obige ganze Betrachtung einfach in der Luft. Um diese Kardinalfrage zu entscheiden, wurden folgende Versuche angestellt.

Kapitel V.

Untersuchungen über die Reifung des Käses bei verschiedener Aufbewahrung.

Als das charakteristische Kennzeichen der Reifung des Käses galt seit altersher außer der Veränderung seiner physikalischen Eigenschaften, wie Farbe, Konsistenz, Geruch usw., in erster Linie die chemische Veränderung des Milcheiweißes, namentlich des Caseins. Mit dem Grade der Reifung tritt eine Spaltung des Caseins ein, die im Laufe der Zeit immer mehr fortschreitet. Infolge davon treten Albumosen und Peptone auf, die sich bei sehr langdauernder Reifung schließlich zum Teil weiter in Aminosäuren, wie in Leucin und Tyrosin spalten. Um den Grad der Reifung des Käses festzustellen, verfährt man daher praktisch so, daß man in einem frischen und gereiften Käse derselben Serie die Menge des fällbaren und nichtfällbaren Stickstoffes vergleicht, weil der letztere auf Kosten des ersteren immer an Menge zunimmt, je weiter der Reifungsprozeß fortschreitet. Nach diesem Prinzip habe ich sowohl von dem frischen wie von dem verschieden lange aufbewahrten Käse den Gesamtstickstoff und den fällbaren Eiweiß-

stickstoff bestimmt. Die Differenz zwischen beiden Werten entspricht dem nichtfällbaren Stickstoff.

Vorbereitung und Gang der Stickstoffbestimmung.

Von allen Käsestückchen A, B, C und D wurde jedesmal das ganze Stück in einer Reibschale unter Zusatz von Alkoholäthermischung zu gleichen Teilen gründlich zerrieben und abfiltriert. Diese Operation wurde mehrmals wiederholt. Alsdann wurde die Masse mehrmals mit absolutem Äther zerrieben und auf einem Filter damit gewaschen. Nach der Trocknung wurde die Substanz in einer Reibschale zu gleichmäßigem feinem Pulver durchgemischt. Alsdann wurde dasselbe in ein Wägegläschen gebracht und im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die einzelnen Proben zur N-Bestimmung wurden auf indirektem Wege bis auf Zehntelmilligramm genau gewogen. Zur Verbrennung nach Kjeldahl dienten 10 ccm konzentrierte Schwefelsäure mit Zusatz von 1,0 g Kupfersulfat und 5,0 g Kaliumsulfat für jede Probe. Das weitere Verfahren geschah auf übliche Weise. Dies bezieht sich auf die Gesamtstickstoffbestimmung. Bei der N-Bestimmung für das fällbare Eiweiß wird die gewogene Probe mit 40 ccm Wasser versetzt und einige Stunden stehen gelassen. Hierauf fügt man noch 20 ccm gesättigter Kochsalzlösung hinzu und rührt die Mischung gut um. Hierzu wird ein wenig frisch gefälltes noch feuchtes Bleihydroxyd und ein paar Tropfen Bleiacetatlösung zugesetzt. Nachdem die Mischung mit verdünnter Essigsäure ganz schwach sauer gemacht worden ist, wird sie bei 100° etwa 15 Minuten im Sieden erhalten, wobei ein flockiger Niederschlag auftritt und die Zwischenflüssigkeit ganz klar wird. Sollte dies nicht der Fall sein, so muß man noch ein paar Tropfen Bleiacetatlösung hinzufügen und einige Minuten kochen. In der Regel erfolgt dann eine vollkommene Fällung. Jetzt wird der Niederschlag auf ein aschefreies Filter gebracht und mit einer warmen Kochsalzlösung ausgewaschen, die $^1/_3$ mit Kochsalz gesättigt und mit Essigsäure ganz schwach sauer gemacht worden ist. Das Auswaschen wird so lange wiederholt, bis das Filtrat keine Biuretreaktion mehr zeigt. Hierauf wird der Niederschlag zuerst mit Alkohol, dann mit Äther mehrmals gewaschen. Nach dem Trocknen

wird der Niederschlag mitsamt Filterpapier nach Kjeldahl auf seinen Stickstoffgehalt untersucht. Daß dieses Verfahren ein durchweg richtiges Resultat liefert, davon habe ich mich durch Extraproben wiederholt überzeugt. Das Eiweiß fällt dabei quantitativ aus, Albumosen und Peptone gehen dagegen restlos in das Filtrat über. Um den Befund von Fett und Eiweiß bei der Reifung des Käses in ein und derselben Serie vergleichend zu beobachten, habe ich in den folgenden Untersuchungen A und B zur Fettbestimmung und C und D zur N-Bestimmung angesetzt. Hierbei dienten A und C zur Kontrolle und B und D zu Reifeversuchen. Die Ergebnisse und einzelnen Daten sind in den Tabellen eingetragen.

Tabelle XXXVII.

Reifung des Käses an der Luft mit Paraffinüberzug.

Versuch 1a (Fettbestimmung).

Art und Menge der Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge d. Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (Auffüllung auf je 1 l)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den Proben		Prozentischer Vergleich des Petrolätherextraktes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Petrolätherextraktes
	g	Tage	g	g	%		%
A (Kontrolle)	19,01	0	a) 0,2175 b) 0,2171 Mittel 0,2173	4,325	22,75	100,00	0
B	18,37	15	a) 0,1996 b) 0,1982 Mittel 0,1989	3,977	21,65	95,16	−4,84

Tabelle XXXVIII.

Reifung des Käses an der Luft mit Paraffinüberzug.

Versuch 1b. N-Bestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer d. Aufbewahrung	Gewicht des getrockneten Käses	Gesamt-N der Trockensubstanz	N d. fällbaren Eiweißes in der Trockensubstanz	N d. nichtfällbar. Substanz in d. Trockensubstanz	Prozent des fällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Prozent d. nichtfällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung
	g	Tage	g	g	g	g			g
C (Kontrolle)	16,94	0	6,7995	0,8045	0,6748	0,1297	83,88	16,12	
D	19,33	15	7,1356	0,8489	0,5778	0,2711	68,06	31,94	15,72

Tabelle XXXIX.

Reifung des Käses an der Luft mit Paraffinüberzug.

Versuch 2. N-Bestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer d. Aufbewahrung	Gewicht des getrockneten Käses	Gesamt-N der Trockensubstanz	N d. fällbaren Eiweißes in der Trockensubstanz	N d. nichtfällbar. Substanz in d. Trockensubstanz	Prozent des fällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Prozent d. nichtfällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung
	g	Tage	g	g	g	g			%
C (Kontrolle)	18,69	0	5,6594	0,6557	0,5456	0,1101	83,20	16,79	
D	18,11	10	5,3188	0,6256	0,4639	0,1617	74,15	25,85	9,05

Tabelle XL.

Reifung des Käses in einer CO_2-Atmosphäre.

Versuch 3a. Fettbestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge d. Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (A auf 1 l, B auf 2 l aufgefüllt)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den Proben		Prozentischer Vergleich des Petrolätherextraktes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Petrolätherextraktes
	g	Tage	g	g	%		%
A (Kontrolle)	21,08	0	a) 0,2821 b) 0,2820 Mittel 0,2821	5,641	26,76	100,00	0
B	21,88	20	a) 0,1437 b) 0,1448 Mittel 0,1443	5,773	26,37	98,54	— 1,46

Tabelle XLI.

Reifung des Käses in einer CO_2-Atmosphäre.

Versuch 3b. N-Bestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer d. Aufbewahrung	Gewicht des getrockneten Käses	Gesamt-N der Trockensubstanz	N d. fällbaren Eiweißes in der Trockensubstanz	N d. nichtfällbar. Substanz in d. Trockensubstanz	Prozent des fällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Prozent d. nichtfällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung
	g	Tage	g	g	g	g			g
C (Kontrolle)	22,62	0	8,0442	0,8892	0,7581	0,1311	85,26	14,74	
D	19,42	20	6,4360	0,7027	0,4246	0,2781	60,42	39,58	24,84

Tabelle XLII.

Reifung des Käses in einer CO_2-Atmosphäre.

Versuch 4a. Fettbestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge d. Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (Auffüllung auf je 1 l)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den Proben		Prozentischer Vergleich des Petrolätherextraktes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Petrolätherextraktes
	g	Tage	g	g	%		%
A (Kontrolle)	19,90	0	a) 0,2320 b) 0,2323 Mittel 0,2322	4,644	23,33	100,00	0
B	19,28	60	a) 0,2242 b) 0,2246 Mittel 0,2244	4,487	23,28	99,78	− 0,22

Tabelle XLIII.

Reifung des Käses in einer CO_2-Atmosphäre.

Versuch 4b. N-Bestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer d. Aufbewahrung	Gewicht des getrockneten Käses	Gesamt-N der Trockensubstanz	N d. fällbaren Eiweißes in der Trockensubstanz	N d. nichtfällbar. Substanz in d. Trockensubstanz	Prozent des fällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Prozent d. nichtfällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung
	g	Tage	g	g	g	g			g
C (Kontrolle)	18,72	0	6,1149	0,7010	0,6053	0,0957	86,36	13,64	
D	17,81	60	4,8868	0,5033	0,2509	0,2524	49,85	50,15	36,51

Tabelle XLIV.

Reifung des Käses in einer H-Atmosphäre.

Versuch 5a. Fettbestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer der Aufbewahrung	Menge d. Petrolätherextraktes in je 50 ccm Käselösung (Auffüllung auf je 1 l)	Gesamtmenge des Petrolätherextraktes in den Proben		Prozentischer Vergleich des Petrolätherextraktes zueinander (A als 100)	Zu- oder Abnahme des Petrolätherextraktes
	g	Tage	g	g	%		%
A (Kontrolle)	24,13	0	a) 0,1278 b) 0,1274 Mittel 0,1276	5,346	21,16	100,00	0
B	21,48	45	a) 0,1138 b) 0,1136 Mittel 0,1137	4,544	21,17	100,047	+ 0,047

Tabelle XLV.

Reifung des Käses in einer H-Atmosphäre.

Versuch 5b. N-Bestimmung.

Art und Menge der Proben		Dauer d. Aufbewahrung	Gewicht des getrockneten Käses	Gesamt-N der Trockensubstanz	N d. fällbaren Eiweißes in der Trockensubstanz	N d. nichtfällbar. Substanz in d. Trockensubstanz	Prozent des fällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Prozent d. nichtfällbaren Stickstoffs (Gesamt-N als 100 gesetzt)	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung
	g	Tage	g	g	g	g			g
C (Kontrolle)	20,54	0	6,5778	0,7352	0,6903	0,0449	93,91	6,10	
D	23,07	45	7,7330	0,7923	0,4762	0,3161	60,00	39,90	33,80

Tabelle XLVI.

Übersichtstabelle über die Veränderung des Fettgehalts und der Stickstoffverteilung im Verlaufe der Reifung in den verschiedenen Atmosphären.

Nummer der Versuche	Art der Aufbewahrung	Dauer der Aufbewahrung Tage	Prozentische Zu- oder Abnahme des Fettes	Abnahme des fällbaren N resp. Zunahme des nichtfällbaren N nach der Reifung (Gesamt-N als 100 gesetzt) %
1	Mit Paraffin überzogen und in der Luft aufbewahrt	15	— 4,84	15,82
2	do.	10	0	9,05
3	Im CO_2-Raum aufbewahrt	20	— 1,46	24,84
4	do.	60	— 0,22	36,51
5	Im H-Raum aufbewahrt	45	+ 0,047	33,80

Ein Blick auf die Übersichtstabelle (XLVI) macht uns klar, daß sich Fett und Eiweiß bei der Aufbewahrung des Käses ganz anders verhalten. Wie oben schon mehrfach nachgewiesen worden ist, erleidet das Fett bei der Aufbewahrung im sauerstofffreien Raum gar keine Veränderung, während dasselbe in der Luft infolge der Schimmelpilzvegetation mit der Zeit abnimmt. Dieses Verhalten ist zum Überfluß auch bei diesen Versuchen bestätigt worden. Die Wirkung der Schimmelpilze wird indes meist nach 10 Tagen der Aufbewahrung in der Luft meßbar. So wurde auch bei diesen Untersuchungen

die Fettabnahme am 10. Tage (Versuch 2) $\pm 0\,\%$, und am 10. Tage (Versuch 1) der Aufbewahrung in der Luft zu $-4{,}84\,\%$ gefunden, während bei der Aufbewahrung im sauerstofffreien Raum (CO_2- resp. H-Atmosphäre) der Fettwert am 20. Tage $-1{,}46\,\%$, am 45. (Versuch 5) $0{,}047\,\%$, und am 60. Tage (Versuch 5) $-0{,}22\,\%$ war, also eine Schwankung, die durchweg innerhalb der Fehlergrenze bleibt. Ganz anders gestaltet sich die Veränderung des Eiweißes bei der Aufbewahrung des Käses. Dieselbe ist ganz unabhängig von der Verschiedenheit der umgebenden Atmosphäre; sie schreitet mit der Dauer der Aufbewahrung immer vorwärts, und zwar ganz gleichgültig, in welchen Atmosphären der Käse auch aufbewahrt worden ist, sei es also in der Luft oder in CO_2- oder H-Gas. Was die Natur dieser Veränderung des Eiweißes bei der Aufbewahrung anbetrifft, so beruht dieselbe auf der Spaltung des Caseins in Albumosen und Peptone. Wie die obigen Tabellen uns auf die schönste Weise zeigten, nimmt die Menge des nichtfällbaren Stickstoffs auf Kosten des fällbaren mit der Dauer der Aufbewahrung ziffernmäßig immer weiter zu. Beim Gesamtstickstoff, als 100 gesetzt, betrug die Zunahme des nichtfällbaren Stickstoffs am 10. Tage $9{,}05\,\%$, am 15. $15{,}82\,\%$, am 20. $24{,}84\,\%$, am 45. $33{,}8\,\%$ und am 60. $36{,}51\,\%$.

Dieses Verhalten läßt sich am besten in einer Kurve graphisch beleuchten.

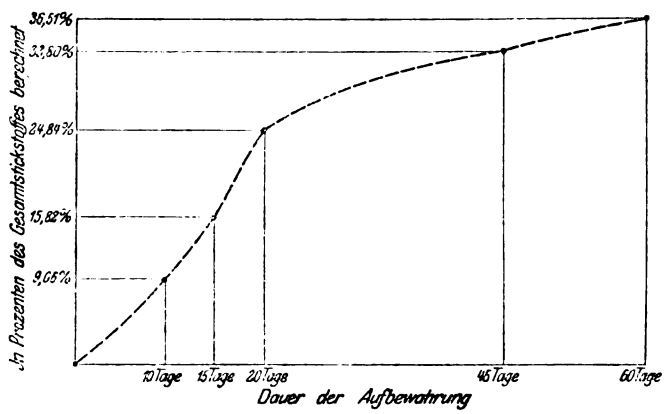


Fig. 1. Kurve zu Tabelle XLVI.
Prozentische Zunahme des nicht fällbaren resp. prozentische Abnahme des fällbaren Käsestickstoffes im Verlaufe der Reifung.

In welchen Atmosphären auch der frische unreife Käse aufbewahrt werden mag, stets erleidet das Casein desselben ein und dieselbe Veränderung, nämlich die Spaltung in Albumosen und Peptone, die das charakteristische Kennzeichen für die Käsereifung darbietet. Demnach ist die im Eingang dieses Kapitels gestellte Frage mit aller Sicherheit dahin entschieden worden, daß sich der Reifungsprozeß des Käses ebenso gut im sauerstofffreien Raume vollzieht wie bei Gegenwart von Luftsauerstoff. Somit ist es meines Wissens zum erstenmal festgestellt worden, daß zur Reifung des Käses die Gegenwart der Luftatmosphäre ganz entbehrlich ist. Wodurch nun der Prozeß der Käsereifung hervorgerufen wird, ist gewiß eine sehr interessante Frage. Da die Aeroben hier ganz ausgeschlossen sind, so kommen wohl nur zwei Momente in Betracht, nämlich entweder Anaeroben oder Fermente. Leider war ich aus Mangel an Zeit nicht imstande, auf die Entscheidung dieser interessanten Frage einzugehen.

Kapitel IV.

Vergleichende Untersuchungen über die Mengen von Ätherextrakt, Petrolätherextrakt, freier Fettsäure und Neutralfett vor und nach der Verseifung bei verschiedenen Reifungsstadien des Käses.

Da die bisherigen Untersuchungen ausschließlich auf der Verseifungsmethode nach Kumagawa-Suto basierten, ist es von erheblichem Interesse, die Menge des Ätherextraktes, die früher von allen Autoren als ein Vergleichungsmaßstab der Fettveränderung bei der Käsereifung betrachtet wurde, mit der Ausbeute nach der Verseifung zu vergleichen.

Es ist von vornherein äußerst wahrscheinlich, daß die Vermehrung des Ätherextraktes bei der Reifung des Käses — falls es wirklich der Fall wäre — durch andere Substanzen außer durch Fett bedingt sein würde, weil einerseits die Zunahme der hochmolekularen Fettsäure durch vorangehende Untersuchungen ausgeschlossen, und andererseits die Anwesenheit von verschiedenen, ätherlöslichen Nichtfettsubstanzen im gereiften Käse sichergestellt worden ist. Mit der Entscheidung dieser Voraussetzung der Experimente wäre es auch wünschenswert, festzustellen, woraus das Petrolätherextrakt vor der Ver

seifung besteht, und wie sich die Menge desselben bei der Reifung des Käses verhält. Um Aufschlüsse über diese Frage zu erhalten, hielt ich ein kombiniertes Verfahren von Extraktion mit Verseifung für das Geeignetste. Betreffs der Methode wurde ein jedes Käsestückchen nach dem Trocknen im Vakuumexsiccator mittels des Heißextraktors nach Kumagawa-Suto mit Alkohol extrahiert. Dieses Extrakt versetzt man nach der Abkühlung mit dem gleichem Volumen von Äther und läßt die Mischung einige Stunden stehen. Nun wird dieselbe auf das entfettete Filter[1]) gebracht und der Rückstand zuerst mit Alkoholäthermischung, dann mit absolutem Äther mehrmals gewaschen. Das vereinigte Filtrat dampft man unter Ventilation ab, löst den Rückstand in Äther und filtriert die Lösung durch ein Asbestfilter. Wenn das Filtrat noch trübe ist, muß dasselbe nochmals abgedampft, wieder in Äther gelöst und auf ein Asbestfilter gebracht werden. Das klare Filtrat füllt man in Meßkolben von 500 ccm mit Äther bis zur Marke auf; hiervon wird ein aliquoter Teil abpipettiert, jede Portion nochmals abgedampft und durch Asbest abfiltriert, damit die Beimengung durch Alkohol ganz beseitigt wird. Auf diese Weise habe ich 3 Reihen von Ätherextraktproben angefertigt. Die erste Reihe von Ätherextrakt wurde in einen Vakuumapparat hineingebracht, dessen Innenraum beständig durch eine Wasserstrahlpumpe abgesaugt wird und gleichzeitig mittels eines Thermoregulators bei 50° warm gehalten ist. Nach der Verdunstung des Äthers wurden die Proben noch 4 Stunden darin gelassen. Alsdann wurden sie im Vakuumexsiccator über Chlorcalcium bis zum nächsten Morgen in der Kälte aufbewahrt und gewogen. Nachdem die Menge des Ätherextraktes festgestellt worden ist, wird nun jede Probe in Petroläther aufgelöst, nach 2 Stunden durch Asbestfilter abfiltriert. Das Filtrat wurde genau ebenso wie oben behandelt und hieraus die Menge des Petrolätherextraktes festgestellt. Die zweite Reihe von Ätherextrakten wurde zur quantitativen Bestimmung des Neutralfettes verwendet, deren Ausführung gleich unten beschrieben wird. Die dritte Reihe von Ätherextrakten habe ich nach Kumagawa-Suto direkt verseift und daraus die Menge des Petrolätherextraktes festgestellt.

[1]) Für die Entfettung von Extraktionshülse und Filtrierpapier habe ich dieselben 5 Stunden der Heißextraktion angesetzt.

Getrennte quantitative Bestimmung von Neutralfett und hochmolekularen Fettsäuren.

Eine exakte Methode zur quantitativen Trennung von Neutralfett und Fettsäuren in einem Petrolätherextrakt liegt bis jetzt nicht vor. Daher habe ich versucht, eine solche Methode auszuarbeiten. Die von mir ausgedachte Methode beruht auf demselben Prinzip wie die quantitative Trennung von Paraffin und Fettsäure. Auf ganz analoge Weise, wie dort, wird die petrolätherische Lösung von Neutralfett und Fettsäuren mit 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge geschüttelt. Hierbei bleibt das Neutralfett im Petroläther aufgelöst zurück, während die Fettsäuren als Seife in alkoholische Lauge übergehen. Hieraus werden die Fettsäuren durch Zusatz konzentrierter Salzsäure in Freiheit gesetzt und in Petroläther aufgenommen. Auf diese Weise wird das Neutralfett von der freien hochmolekularen Fettsäure in einem Petrolätherextrakt getrennt. Da die letztere in der Regel an Menge sehr gering ist, so erschien mir vorher eine Beweisführung nötig, ob die Trennung der beiden Substanzen in der Tat vollkommen quantitativ stattfindet. Für diesen Zweck habe ich besondere Versuche mit einem Gemenge von Neutralfett und hochmolekularen Fettsäuren angestellt. Der Gang der Trennung geschieht folgendermaßen: Eine gewisse, genau bekannte Menge von Fettsäure und Neutralfett (eigentlich Neutralfett + Spur unverseifbarer Substanz) wird zusammen in Petroläther aufgelöst. Die Lösung wird in einen Scheidetrichter (A) hineingebracht und durch Ausspülung mit Petroläther auf ca. 70 ccm gefüllt. Hierzu werden 20 ccm 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge gegeben und tüchtig geschüttelt. Nach etwa 10 Min. gießt man die untere alkoholwässerige Schicht in einen zweiten Scheidetrichter (B) ab. Die zurückgebliebene Petrolätherlösung in A wird nochmals mit 10 ccm 50%iger alkoholwässeriger Lösung von $^n/_{10}$-Kalilauge versetzt, gut geschüttelt und die untere Schicht nach 10 Minuten wieder in B abgegossen. Diese Prozedur wird zum drittenmal unter Zusatz von 10 ccm 50%igen Alkohols ohne Kaligehalt wiederholt. Jetzt gießt man die Petrolätherlösung in A in ein Becherglas ab, spült den Trichter dreimal mit ein wenig Petroläther gut aus und gießt alle Waschlösungen in dasselbe Becherglas ab (I. Portion von Petrol-

ätherextrakt resp. Neutralfett). Um nun von alkoholwässeriger Lösung das beigemengte, geringfügige Neutralfett zu trennen, wird die in B vereinigte alkoholwässerige Lösung mit70 ccm Petroläther versetzt und gut geschüttelt. Nach 10 Min. wird die untere alkoholwässerige Schicht in A abgegossen. Man wiederholt dieselbe Prozedur noch zweimal, und zwar einmal unter Zusatz von 10 ccm 50 %iger alkoholwässeriger Lösungvon $^n/_{10}$-Kalilauge, und ein anderes Mal unter Zusatz von 10 ccm 50 %igen Alkohols ohne Alkaligehalt, wobei die untere alkoholwässerige Lösung immer in A hineingebracht wird, während die Petrolätherlösung in B bleibt (II. Portion von Petrolätherextrakt resp. Neutralfett). Diese II. Portion von Petroläther gießt man in die I. Portion desselben zusammen, wobei B mit ein wenig Petroläther dreimal abspült und alles zu einer einzigen Petrolätherlösung vereinigt wird. Alsdann wird die vereinigte Petrolätherlösung unter Ventilation abgedampft. Der Rückstand wird nochmals in Petroläther aufgelöst und durch Asbestfilter in ein gewogenes Becherglas abfiltriert. Das Filtrat wird nun unter Ventilation verdunstet, der Rückstand 1 Stunde im Vakuum bei 50° getrocknet und schließlich im Vakuumexsiccator bis zur Gewichtskonstanz aufbewahrt. Dies stellt die Menge des Neutralfettes dar. Was die weitere Ausarbeitung der auf die obige Weise vollkommen von Neutralfett befreiten Fettsäure anbetrifft, die im Scheidetrichter (B) als Seifenlösung enthalten ist, so wird dieselbe durch Säurezusatz in Freiheit gesetzt, mit Petroläther aufgenommen, gereinigt und gewogen. Die einzelnen Manipulationen geschehen genau ebenso, wie im Kapitel II bei der Bestimmung der von Paraffin getrennten Fettsäure.

Diese besonderen Proben haben folgende Werte ergeben:

Versuch 1.

Vor dem Versuche	Die Menge der angewendeten Fettsäure .	0,1529
	„ „ des „ Neutralfettes[1])	0,1948
Nach dem Versuche	Die gewogene Fettsäure	0,1528
	Das „ Neutralfett	0,1956

Versuch 2.

Vor dem Versuche	Die Menge der angewendeten Fettsäure .	0,1837
	„ „ des „ Neutralfettes	0,2156
Nach dem Versuche	Die gewogene Fettsäure	0,1835
	Das „ Neutralfett	0,2150

[1]) Das Neutralfett ist mit geringfügiger unverseifbarer Substanz vermengt; ebenso in den drei übrigen Versuchen.

Versuch 3.

Vor dem Versuche	Die Menge der angewendeten Fettsäure	0,2325
	„ „ des „ Neutralfettes	0,1856
Nach dem Versuche	Die gewogene Fettsäure	0,2309
	Das „ Neutralfett	0,1857

Versuch 4.

Vor dem Versuche	Die Menge der angewendeten Fettsäure	0,2308
	„ „ des „ Neutralfettes	0,2047
Nach dem Versuche	Die gewogene Fettsäure	0,2310
	Das „ Neutralfett	0,2047

Eigentliche Untersuchungen.

Nachdem jedes Käsestückchen (A, B, C und D) 24 Stunden (Versuch 1) resp. 48 Stunden (Versuch 2) in den Vakuumexsiccator gelegt worden ist, wurde A sogleich nach der Zubereitung, die übrigen (B, C und D) erst nach verschieden langer Aufbewahrung mittels des Heißexsiccators 15 Stunden mit Alkohol extrahiert. Die aus dem Alkoholextrakt auf die oben beschriebene Weise hergestellte reine ätherische Lösung wird im Meßkolben auf 500 ccm aufgefüllt und hiervon je 20 ccm abpipettiert.

Die weitere Ausführung geschah wie oben beschrieben. Die Resultate und alle einzelnen Daten sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Ehe ich auf die Betrachtung der Ergebnisse dieser Untersuchungen eingehe, schicke ich eine Erklärung über die Bezeichnung in den Tabellen voraus:

1. Petrolätherextrakt I (Kolumne 7 bis 9) ist das mittels Ätherextraktion ohne Verseifung direkt erhaltene; 2. Petrolätherextrakt II (Kolumne 10 bis 12) ist das von Petrolätherextrakt I durch Trennung der freien hochmolekularen Fettsäuren zurückgebliebene und durch wenig unverseifbare Substanz beigemengte Fett, dessen Natur ich später gesondert bespreche; 3. Petrolätherextrakt III (Kolumne 16 bis 18) ist das durch Verseifung des abpipettierten Ätherextraktes nach Kumagawa-Suto Gewonnene; 4. Restfett (Kolumne 19 bis 20) ist dasjenige Petrolätherextrakt, das gewonnen wird, wenn man den durch Alkohol extrahierten Käserückstand von neuem nach Kumagawa-Suto direkt verseift; 5. Gesamtfett (Kolumne 21 bis 22) ist Summe von Petrolätherextrakt III und Restfett.

Tabelle
Generaltabelle des

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Art der Proben	Gewicht der Proben	Dauer der Aufbewahrung	Ergebnisse der Alkoholäther-								
			Menge des Ätherextraktes in je 20 ccm Ätherlösung (Auffüllung auf je 500 ccm)	Gesamtmenge des Ätherextraktes in den einzelnen Proben		Petroläther-extrakt I d. h. Ätherextrakt direkt mit Petroläther aufgenommen: Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Petroläther-extrakt I: Gesamtmenge des Extraktes in den einzelnen Proben		Petroläther-extrakt II d. h. Ätherextrakt nach Alkalischüttelung mit Petroläther aufgenommen: Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Petroläther-extrakt II: Gesamtmenge des Extraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage	g	g	%	g	g	%	g	g	%
A (Kontrolle)	30,38	0	a) 0,3038 b) 0,3032 Mittel 0,3035	7,586	24,98	a) 0,3013 b) 0,3011 Mittel 0,3012	7,530	24,79	a) 0,2965 b) 0,2968 Mittel 0,2967	7,416	24,42
B	32,55	6	a) 0,3290 b) 0,3288 Mittel 0,3289	8,222	25,25	a) 0,3248 b) 0,3254 Mittel 0,3251	8,127	24,97	a) 0,3206 b) 0,3209 Mittel 0,3208	8,019	24,63
C	32,68	12	a) 0,3368 b) 0,3370 Mittel 0,3369	8,422	25,77	a) 0,3298 b) 0,3299 Mittel 0,3299	8,247	25,23	a) 0,3250 b) 0,3261 Mittel 0,3256	8,139	24,91
D											

Ver-

Tabelle
Generaltabelle des

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Art der Proben	Gewicht der Proben	Dauer der Aufbewahrung	Ergebnisse der Alkoholäther-								
			Menge des Ätherextraktes in je 20 ccm Ätherlösung (Auffüllung auf je 500 ccm)	Gesamtmenge des Ätherextraktes in den einzelnen Proben		Petroläther-extrakt I d. h. Ätherextrakt direkt mit Petroläther aufgenommen: Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Petroläther-extrakt I: Gesamtmenge des Extraktes in den einzelnen Proben		Petroläther-extrakt II d. h. Ätherextrakt nach Alkalischüttelung mit Petroläther aufgenommen: Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Petroläther-extrakt II: Gesamtmenge des Extraktes in den einzelnen Proben	
	g	Tage	g	g	%	g	g	%	g	g	%
A (Kontrolle)	20,30	0	a) 0,1895 b) 0,1896 Mittel 0,1896	4,741	23,35	a) 0,1856 b) 0,1861 Mittel 0,1859	4,647	22,90	a) 0,1847 b) 0,1840 Mittel 0,1844	4,609	22,71
B	21,58	8	a) 0,2022 b) 0,2032 Mittel 0,2027	5,067	23,48	a) 0,1988 b) 0,1996 Mittel 0,1992	4,979	23,08	a) 0,1960 b) 0,1962 Mittel 0,1961	4,903	22,72
C	20,98	20	a) 0,1997 b) 0,2013 Mittel 0,2005	5,012	23,89	a) 0,1973 b) 0,1972 Mittel 0,1973	4,933	23,52	a) 0,1924 b) 0,1928 Mittel 0,1926	4,814	22,95
D											

Ver-

LVII.

Versuchs 1.

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
extraktion			Ergebnisse der Verseifung des Ätherextraktes und Käserückstandes						
Präformierte Fettsäure bei Alkalischüttelung			Petrolätherextrakt III d. h. Ätherextrakt nach Verseifung mit Petroläther aufgenommen			Restfett im Käserückstande nach Alkoholextraktion		Gesamtfett d. h. Summe des Petrolätherextraktes von Ätherextrakt und Käserückstand nach Verseifung	
Menge der Fettsäuren in je 20 ccm Ätherextrakt	Gesamtmenge der Fettsäuren in d. einzelnen Proben		Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Gesamtmenge des Extraktes in d. einzelnen Proben		Menge des Extraktes in den einzelnen Proben	In Prozenten des Gesamtfettes		
g	g	%	g	g	%	g		g	%
a) 0,0017 b) 0,0013	0,03750	0,124	a) 0,2703 b) 0,2701	6,754	22,24	0,2440	3,49	6,998	23,04
Mittel 0,0015			Mittel 0,2702						
a) 0,0018 b) 0,0016	0,04250	0,131	a) 0,2907 b) 0,2913	7,274	22,35	0,2003	2,67	7,474	22,96
Mittel 0,0017			Mittel 0,2910						
a) 0,0021 b) 0,0016	0,04625	0,142	a) 0,2906 b) 0,2896	7,257	22,19	0,1290	1,75	7,380	22,58
Mittel 0,0018			Mittel 0,2901						

loren

LVIII.

Versuchs 2.

13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
extraktion			Ergebnisse der Verseifung des Ätherextraktes und Käserückstandes						
Präformierte Fettsäure bei Alkalischüttelung			Petrolätherextrakt III d. h. Ätherextrakt nach Verseifung mit Petroläther aufgenommen			Restfett im Käserückstande nach Alkoholextraktion		Gesamtfett d. h. Summe des Petrolätherextraktes von Ätherextrakt und Käserückstand nach Verseifung	
Menge der Fettsäuren in je 20 ccm Ätherextrakt	Gesamtmenge der Fettsäuren in d. einzelnen Proben		Menge des Extraktes in je 20 ccm Ätherextrakt	Gesamtmenge des Extraktes in d. einzelnen Proben		Menge des Extraktes in den einzelnen Proben	In Prozenten des Gesamtfettes		
g	g	%	g	g	%	g		g	%
a) 0,0009 b) 0,0009	0,0225	0,111	a) 0,1671 b) 0,1665	4,170	20,54	0,1150	2,68	4,285	21,11
Mittel 0,0009			Mittel 0,1668						
a) 0,0016 b) 0,0016	0,0400	0,185	a) 0,1779 b) 0,1782	4,451	20,63	0,0989	2,15	4,550	20,99
Mittel 0,0016			Mittel 0,1781						
a) 0,0027 b) 0,0033	0,0750	0,357	a) 0,1711 b) 0,1709	4,277	20,38	0,0211	0,49	4,298	20,47
Mittel 0,0030			Mittel 0,1710						

loren

Tabelle

Übersichtstabelle von

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nummer der Versuche	Dauer der Aufbewahrung	Ergebnisse der Alkoholäther-								
		Ätherextrakt			Petrolätherextrakt I (Neutralfett + freie Fettsäure)			Petrolätherextrakt II (Neutralfett ohne Fettsäure)		
	Tage	in den einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich zueinander (A als 100)	Zu- (+) oder Abnahme (−) %	in den einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich zueinander (A als 100)	Zu- (+) oder Abnahme (−) %	in den einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich zueinander (A als 100)	Zu- (+) oder Abnahme (−) %
1 A (Kontrolle)	0	24,98	100,00	0	24,79	100,00	0	24,42	100,00	0
1 B	6	25,25	101,08	+ 1,08	24,97	100,72	+ 0,72	24,63	100,86	+ 0,86
1 C	12	25,77	103,16	+ 3,16	25,23	101,88	+ 1,88	24,91	102,01	+ 2,01
1 D										Ver-
2 A (Kontrolle)	0	23,35	100,00	0	22,90	100,00	0	22,71	100,00	0
2 B	8	23,48	100,55	+ 0,55	23,08	100,79	+ 0,79	22,72	100,04	+ 0,04
2 C	20	23,89	102,31	+ 2,31	23,52	102,71	+ 2,71	22,95	101,05	+ 1,05
2 D										Ver-

Ergebnisse der Untersuchungen zum Kapitel VI.

Trotz der sehr mühevollen Untersuchungen dieses Kapitels, wie die einzelnen Daten in den Tabellen dies beleuchten, ist aus den gewonnenen Resultaten leider nicht vieles hervorzuheben. Vor allem war es mir etwas überraschend, daß die Zunahme des Ätherextraktes nach der Reifung des Käses nicht so bedeutend war, wie ich sie anfänglich vermutete. Wie ein Blick auf die Übersichtstabelle LIX uns zeigt, sind die Differenzen der verschiedenen Extrakte und Fettwerte bei der Reifung im großen und ganzen unbedeutend, so daß man dieselben kurzweg mit einem Worte als die innerhalb der Fehlergrenze angehörigen zusammenfassen darf. Betrachtet man indessen die Ergebnisse etwas genauer und vergleicht man zunächst die Ausbeute der Alkoholextraktion mit der der Verseifung, so ist zwischen beiden, wenn auch in geringem Grade, doch ein gewisser Unterschied nicht zu verkennen. Bei dem ersteren sind

LIX.

Versuchen 1 und 2.

12	13	14	15	16	17	18	19
extraktion	Ergebnisse der Verseifung des Ätherextraktes und des Käserückstandes						
Menge der freien Fettsäuren in den Proben %	Neutralfett (Petrolätherextrakt nach Verseifung des Ätherextraktes × 1,046): in den einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich zueinander (A als 100)	Zu- (+) oder Abnahme (−) %	Gesamtfett (Summe des Petrolätherextraktes nach Verseifung von Ätherextrakt und Käserückstand × 1,046): in den einzelnen Proben %	Prozentischer Vergleich zueinander (A als 100)	Zu- (+) oder Abnahme (−) %	Restfett der einzelnen Käserückstände nach Verseifung in Prozenten des Gesamtfettes
0,124	23,26	100,00	0	24,10	100,00	0	3,49
0,131	23,38	100,49	+ 0,49	24,02	99,22	− 0,18	2,67
0,142	23,21	99,77	− 0,23	23,62	98,00	− 2,00	1,75
loren							
0,111	21,48	100,00	0	22,08	100,00	0	2,68
0,185	21,58	100,43	+ 0,43	21,96	99,43	− 0,57	2,15
0,357	21,32	99,22	− 0,78	21,41	96,97	− 3,03	0,49
loren							

alle Werte von Ätherextrakt, Neutralfett und freier Fettsäure nach der Reifung um 2 bis 3% höher, als die von dem Ausgangsmaterial vor der Reifung, während bei den letzteren (nach Verseifung) alle entsprechenden Werte im Gegenteil durchweg um 2 bis 3% niedriger sind. Daß die Menge des Ätherextraktes mit dem Grad der Reifung immer zunimmt, ist ohne weiteres verständlich, weil die Milchsäure und die anderen in Äther löslichen organischen Substanzen außer Fett beim Reifeprozeß des Käses zunehmen würden. Auch die Zunahme von freien Fettsäuren bei der Reifung läßt sich ohne Schwierigkeit auf die fermentative Spaltung des Neutralfettes zurückführen. Schwer erklärlich ist somit nur der Befund, daß der dem Neutralfett entsprechende Wert ebenfalls zugenommen hat. Da indeß der aus den nach der Verseifung desselben gewonnenen hochmolekularen Fettsäuren berechnete Wert des Neutralfettes im Gegenteil um ein paar Prozente ab-

genommen hat, so kann von einer wirklichen Neubildung des Neutralfettes natürlich keine Rede sein. Es könnte dieser Befund höchstens so aufgefaßt werden, daß eine geringe Vermehrung des Triglycerides aus flüchtigen Fettsäuren stattgefunden hätte, die sich bei der Verseifung verflüchtigt haben. Wahrscheinlicher ist aber die Erklärung, daß hier irgendein technischer Fehler bei der Bestimmung vorliegt. Wie gesagt, haben die nach der Verseifung gewonnenen Werte von hochmolekularen Fettsäuren des Ätherextraktes, sowie alle hieraus berechneten Werte und die Gesamtsumme aller Fettsäuren nach der Reifung sämtlich um einige Prozente abgenommen. Demnach geben auch diese Untersuchungen einen absolut sicheren Beweis dafür, daß bei der Reifung des Käses keine Fettneubildung aus Eiweiß stattfindet. Es ist mir ganz unbegreiflich, warum die bisherigen Forscher hier und da eine ungeheure Vermehrung des Fettes bei der Reifung des Käses gefunden haben. Wie erwähnt, fand Blondeau im frischen Käse 1,85% und in 2 Monate altem Käse 32,3%. Kemmerich fand im Käse nach 6 Tagen eine Zunahme von Fett über 41% und nach 16 Tagen über 88%. Jacobsthal fand eine Zunahme von Fett nach 7 Tagen 31% und nach 14 Tagen 100%. Im Beginn dieser Untersuchung schwebte mir der Gedanke vor, daß diese Zunahme des Ätherextraktes wohl auf die bei der Reifung des Käses aus dem Milchzucker fermentativ abgespaltene Milchsäure zurückzuführen sei. Experimente konnten diese Vermutung nicht bestätigen. Selbst von dem Nichtfettätherextrakte in toto konnte ich nach 20tägiger Reifedauer eine Vermehrung über 3% nicht verzeichnen. Zum Schluß füge ich noch eine kleine Bemerkung hinzu, daß trotz energischer Extraktion des getrockneten Käsepulvers mit heißem Alkohol (siehe Kolumne 19, Tabelle LIX), von dem Gesamtfett noch einige Prozente im Pulverrückstande zurückblieben, die sich erst durch die totale Verseifung desselben gewinnen ließen. Die Menge dieses Restfettes nimmt mit der Dauer der Reifung immer ab. Dies rührt wohl davon her, daß die Konsistenz der Käsemasse mit der Reifung immer mürber wird, infolgedessen das Fett der Alkoholextraktion leichter zugänglich wird.

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

1. Bei der Reifung des Käses an der Luft findet stets eine Abnahme des Fettes statt. Diese Fettabnahme fängt meist nach 10 Tagen der Aufbewahrung des Käses an der Luft an und nimmt mit der Zeit an Intensität zu. Der Grad der Fettabnahme ist indes bei den anscheinend auf die gleiche Weise zubereiteten Käsen nicht gleich. Derselbe hängt nicht bloß von der Dauer der Aufbewahrung, sondern sehr wahrscheinlich von den physikalischen Eigenschaften des Käses einerseits und von der Temperatur des Raumes andererseits ab. So fand ich z. B. im Versuch 1 nach 15 Tagen der Aufbewahrung eine Abnahme von Fett um 5,37%, nach 30 Tagen um 8,98% und nach 40 Tagen um 11,76%, während dieselbe im Versuch 2 nach 15 Tagen um 1,04%, nach 20 Tagen um 3,73% und selbst nach 40 Tagen nur um 6,28% betrug.

2. Die Fettabnahme des Käses bei der Reifung an der Luft beruht darauf, daß sich die Schimmelpilze im Laufe der Aufbewahrung auf der Oberfläche des Käses entwickeln, deren fettzehrende Eigenschaften durch Kumagawa und Ohta[1]) zum erstenmal festgestellt worden sind. Die Pilzvegetation beginnt ebenfalls meist nach 10 Tagen der Aufbewahrung und nimmt mit der Zeit immer an Intensität zu. Schließlich wird die ganze Oberfläche des Käses mit weißlichem Pilzrasen bedeckt. Der Grad der Fettabnahme des Käses stimmt demnach zeitlich mit dem der Pilzvegetation vollkommen überein. Je mehr also die Pilzvegetation fortschreitet, desto mehr nimmt die Fettmenge des Käses ab.

3. Die Versuche, die Schimmelpilzvegetation und somit auch die Fettabnahme durch Überziehen des Käses mit Paraffin ganz zu verhindern, haben uns nicht zum Ziele geführt. Bei der Aufbewahrung des Käses an der Luft fand die Fettabnahme genau ebenso stark mit Paraffinüberzug wie ohne denselben statt. Der Luft-Sauerstoff gelangt wohl durch die dünne Paraffinhaut zur Oberfläche des Käses und läßt die Pilzkeime zur Entwicklung gelangen. Wenn indes der Käse vor Beginn der Versuche wiederholt ins Paraffinbad hineingetaucht wird, so wachsen die Pilze bei der darauffolgenden Aufbewahrung nur

[1]) K. Ohta, a. a. O.

spärlich, und dementsprechend ist der Grad der Fettabnahme viel geringer. Eine vollkommene Hemmung der Pilzvegetation durch Paraffinbehandlung des Käses gelang mir indessen nicht.

4. Der Reifungsprozeß des Käses und die Abnahme des Fettes sind zwei ganz unabhängige Vorgänge. Demnach ist zur Reifung des Käses nicht unbedingt notwendig, daß das Fett gleichzeitig immer abnimmt. Dies ist dadurch bewiesen, daß sich die Reifung des Käses ebenso gut bei Abwesenheit von Luftsauerstoff vollzieht, wie in der freien Luft, und in dem ersten Falle keine Abnahme des Fettes stattfindet. Diese wichtigen Fakta sind experimentell dadurch nachgewiesen, daß die Luft im Raume der Aufbewahrung durch Kohlensäure- resp. Wasserstoffgas verdrängt wurde. Hier fand keine Pilzvegetation und dementsprechend auch keine Abnahme des Fettes statt. Nichtsdestoweniger vollzog sich die Reifung des Käses ganz ebenso gut wie in der Luftatmosphäre.

5. Als das charakteristische Kennzeichen der Reifung des Käses galt seit altersher die Spaltung des Caseins in Albumosen, Pepton und schließlich in Aminosäuren, wie in Leucin, Tyrosin usw. Praktisch wird der Grad dieser Spaltung durch die Bestimmung der Menge des fällbaren und nichtfällbaren Stickstoffs festgestellt. Da nun die Menge des letzteren mit der Dauer der Aufbewahrung auf Kosten des ersteren immer zunimmt, gleichgültig ob der Käse in der Luft- resp. Kohlensäure- resp. Wasserstoffatmosphäre aufbewahrt wird, so geht hieraus hervor, daß der obige Schluß in vollem Umfange berechtigt ist.

6. Aus dem Satz 5 geht unmittelbar hervor, daß zum Reifungsprozeß des Käses eine Beteiligung der Aeroben durchaus entbehrlich ist. Ob indessen dieser Prozeß durch die Anaeroben oder vielmehr durch die im Käse präexistierenden Fermente allein hervorgerufen wird, ist zurzeit noch eine offene Frage. Ich bin mehr der letzteren Ansicht.

7. Vergleichende Untersuchungen über den Lipoidgehalt des Käses mit der Alkoholätherextraktion einerseits und mit der Verseifung andererseits haben nun das Resultat ergeben, daß die Ausbeute des Ätherextraktes, des Petrolätherextraktes desselben sowie der freien Fettsäuren bei der ersteren nach der Reifung im Vergleiche mit denen des Ausgangsmaterials durchweg um 2 bis 3% zugenommen haben, während die Menge

der durch die Verseifung der obigen Extrakte gewonnenen freien Fettsäuren, sowie die Summe dieser und der im Käserückstand nach der Extraktion im Gegenteil um ein paar Prozente abgenommen haben. Die Zunahme des Ätherextraktes nach der Reifung ist leicht verständlich insofern, weil sich die Menge der Nichtfettätherextrakte, wie Milchsäure und andere organische Substanzen, bei der Reifung infolge der fermentativen Wirkung vermehren würde. Die Vermehrung der freien Fettsäuren nach der Reifung läßt sich ebenfalls ohne Schwierigkeit auf die fermentative Spaltung des Neutralfettes zurückführen. Es war mir sogar etwas überraschend, daß die Zunahme des Ätherextraktes nach der Reifung des Käses wider Erwarten geringer war, als ich sie von vornherein vermutete. Denn ich war anfänglich der Meinung, daß die außerordentlich starke Vermehrung des Ätherextraktes bei der Käsereifung, die frühere Forscher hier und da gefunden haben, sich mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Zunahme der Milchsäure infolge der fermentativen Wirkung zurückführen läßt. Experimente haben diese Voraussetzung nicht bestätigt. Um so mehr ist es mir ganz unverständlich, warum die früheren Forscher so abweichende Resultate erhalten haben.

8. Zum Schluß betone ich noch einmal, daß bei der Reifung des Käses unter keinen Umständen eine Vermehrung des Fettes stattfindet, geschweige denn eine Neubildung des Fettes aus Eiweiß. Die Menge des Fettes nimmt entweder stets ab bei der Reifung des Käses an der Luft infolge der Schimmelpilzvegetation, oder sie bleibt ganz unverändert, wenn die Reifung im sauerstofffreien Raume vor sich geht.

Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut.

Von

L. Michaelis.

(Aus dem biologischen Laboratorium des Städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1913.)

Es besteht ein großes Bedürfnis, genaue Zuckerbestimmungen in möglichst kleinen Blutmengen auszuführen. Ein Fortschritt war zuerst die von Möckel und Franck[1]) ausgearbeitete Methode, die sich der Enteiweißung mit Eisenhydroxyd nach Michaelis und Rona und der Bertrandschen Reduktionsmethode bedienten, um in 5 ccm Blut eine genaue Zuckerbestimmung auszuführen. Einen weiteren erheblichen Fortschritt stellt die neueste Mikromethode von I. Bang dar, der die Analyse mit etwa 0,13 ccm Blut vornimmt. Es ist aber vielleicht nicht überflüssig, eine noch andere Mikromethode zu beschreiben und der Erfahrung zu überlassen, welche man in Zukunft vorziehen soll. Das Prinzip dieser Methode ist

1. Enteiweißung des Vollblutes durch Kombination der Hitzekoagulation und der Adsorption durch Eisenhydroxyd: die notwendige Verdünnung des Blutes wird dadurch geringer, als wenn man mit Eisenhydroxyd allein enteiweißt.

2. Ausarbeitung der Bertrandschen Zuckerbestimmung für kleinste Zuckermengen.

Die für die Analyse notwendige Blutmenge bei normalem Zuckergehalt beträgt bei hohen Ansprüchen an Genauigkeit 1,5 ccm; hier ist die Methode an Genauigkeit der gewöhnlichen Methode durchaus ebenbürtig und hat bei einer fehlerlosen

---

[1]) K. Moeckel und E. Franck, Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 321, 1910.

Einzelbestimmung eine Fehlergrenze von sicher nicht mehr als $\pm$ 2 bis 3% Abweichung vom wahren Wert. Bei minderen Ansprüchen an Genauigkeit, auf etwa 5 bis 8% des Gesamtwertes bei einer Einzelbestimmung, was für klinische Zwecke völlig ausreichend ist, kommt man schon mit 1 ccm Blut oder etwas weniger gut aus, bei Hyperglykämien mit entsprechend noch weniger. Sind also die notwendigen Blutmengen ein wenig größer, als sie von I. Bang für seine Methode gefordert werden, so sind diese Mengen doch noch so klein, daß es keine Schwierigkeiten haben dürfte, sie mühelos zu erhalten.

Die Methode gestaltet sich folgendermaßen:

Das Blut kann aus der Fingerkuppe entnommen werden Man mache mit einem Schnepper in die Fingerbeere, nachdem man den Finger fest auf eine nicht federnde Unterlage aufgelegt hat, ein Schnittchen, so tief, daß das Blut nachher von selbst oder bei ganz leichtem Streichen tropfenweise abfließt. Man fange das Blut in einem Schälchen auf, in das man einige Körnchen Natriumfluorid getan hat. Das spontane Tropfen wird durch herabhängende Haltung des Armes unterstützt. Es genügt zu einer einfachen Bestimmung 1 ccm; etwas über 2 ccm oder 35 bis 40 Tropfen reichen daher für eine Doppelbestimmung. So viel ist aber sehr leicht und ohne Beschwerden aus dem Finger zu bekommen. Das Schälchen mit dem Blut wird während des Auffangens dauernd leicht bewegt, um das NaF zu verteilen.

Nunmehr messe man mit einer genauen Pipette 1 ccm Blut (eventuell auch bis 2 ccm) ab und gebe sie in einen 100 ccm fassenden, birnenförmigen, gewöhnlichen Erlenmeyer-Kolben, der vorher mit genau 10 ccm destilliertem Wasser beschickt worden ist, wasche die Pipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen mit diesem Wasser gut aus und entleere sie zum Schluß so vollkommen wie nur möglich. Dann fülle man die Flüssigkeit mit Wasser auf 12 ccm auf.

Nunmehr wird der Kolben unter häufigem Umschwenken auf freier Flamme (über einer Schicht Asbestpapier) bis zum Sieden erhitzt und unter Umschütteln etwa 2 Sekunden im Sieden erhalten und dann vom Feuer genommen, dann ganz allmählich, langsam, tropfenweise und unter lebhaftem dauernden Umschwenken mit 7,5 ccm einer aufs

Fünffache verdünnten Lösung von Liquor ferri oxydati dialysati (Riedel) versetzt, schließlich 0,5 ccm einer 0,5%igen Lösung von Magnesiumsulfat zugesetzt und leicht umgeschüttelt.

Das Magnesiumsulfat hat einen doppelten Zweck. Erstens koaguliert es das überschüssige Eisenhydroxyd; zweitens bringt das nachher aus ihm entstehende Magnesiumhydroxyd beim Abzentrifugieren eine erwünschte, flockige Beschaffenheit des Bodensatzes hervor.

Dann wird durch ein gewöhnliches Filter in einen Trichter von mittlerer Größe abfiltriert. Das Filtrat muß wasserklar sein und spielend leicht durchfiltrieren. Man filtriere es in einem hohen Meßzylinder von 20 ccm Inhalt hinein. (Eventuell überzeuge man sich an einem kleinen Pröbchen von der gelungenen Enteiweißung durch eine Probe mit Sulfosalicylsäure.) Von dem Filtrat bringe man 12,5 ccm in ein Kochkölbchen von leicht konischer, fast zylindrischer Form (Höhe desselben etwa 10 ccm).

Wenn das spontane Filtrieren diese Menge nicht hergeben sollte, so erhält man sie ganz leicht, wenn man das Filter zum Schluß aus dem Trichter hebt und ganz sanft ausdrückt.

Man kann auch eine etwas andere Menge des Filtrats, etwa 12 bis 13 nehmen, muß aber bei der Umrechnung darauf Rücksicht nehmen. Kommt es nicht auf möglichste Vergrößerung des Materials an, wenn z. B. die Zuckermenge des verarbeiteten Blutes 2 mg beträgt, so kann man zur Vereinfachung des Rechnens 10 ccm nehmen.

Hierzu gebe man 0,7 ccm der Bertrandschen Seignettesalzlösung und 0,3 bis 0,5 ccm der Bertrandschen Kupfersulfatlösung.

Der Überschuß an Seignettesalz bewirkt, daß auch bei sehr kleinen Zuckermengen keine Abscheidung von braunem Kupferoxyd stattfindet. Dieses würde zwar die Analyse nicht direkt stören, ist aber oft hinderlich, weil es oft zum Teil in kolloidaler Lösung bleibt unter brauner Verfärbung der Flüssigkeit und dann auch die gute Abscheidung des Kupferoxyduls mechanisch verhindern kann. Erwartet man in den 12,5 ccm des Filtrats weniger als etwa 0,7 mg Zucker, so nehme man aus demselben Grunde lieber nur 0,3 ccm Kupferlösung; die Menge der Kupferlösung ist innerhalb der angegebenen Grenzen ohne Einfluß auf das Resultat.

Nun erhitze man zunächst mit großer Flamme, später mit kleiner Flamme bis zum Sieden und halte die Flüssigkeit, bedeckt mit einem Uhrschälchen, 3 bis $3^1/_2$ Minuten lang in schwachem Sieden.

2 Minuten sind nicht ausreichend, dagegen ändert eine selbst erhebliche Überschreitung der vorgeschriebenen 3 Minuten das Resultat nicht. Ist die Menge des gebildeten Cu_2O sehr gering, so koche man deshalb besser 4 Minuten, der Niederschlag läßt sich dann besser zentrifugieren.

Jetzt gieße man die noch warme Flüssigkeit in ein etwa 30 ccm fassendes Zentrifugiergefäß und wasche den Rest zweimal mit je 1 ccm ausgekochtem destillierten Wasser nach[1]). Das Kochkölbchen wird jetzt sofort mit 1 ccm der Bertrandschen Eisenlösung versetzt und zunächst aufbewahrt. Das Zentrifugenröhrchen wird sofort zentrifugiert, bis der Niederschlag fest am Boden haftet. Man lasse die Zentrifuge dann sehr langsam, ohne künstliche Arretierung, auslaufen.

Bei unserer, ziemlich kleinen Zentrifuge mit kaum 2000 Touren in der Minute, erfordert das Zentrifugieren je nach der Menge des Niederschlages 2 bis 5 Minuten (ausschließlich des Auslaufens). Die Niederschläge sedimentieren zwar stets gut, kleben aber oft nicht gleich am Boden fest. Man hebe nun mit einer Pipette, die etwa wie eine Augentropfpipette, aber mit capillarer Spitze eingerichtet ist, und deren Öffnung man stets dicht unter dem Flüssigkeitsniveau hält, die Flüssigkeit so weit ab, daß ihre Höhe nur noch etwa 2 bis 3 cm beträgt, und zentrifugiere nun nochmals 2 bis 5 Minuten. Dann klebt der Niederschlag gewöhnlich gut am Boden. Durch verlängertes Zentrifugieren bei der ursprünglichen Höhe der Flüssigkeitsschicht ist dieses Kleben meist nicht zu erreichen.

Nun gieße man vorsichtig die Flüssigkeit ab, soweit es ohne Verlust des Niederschlags möglich ist. Das geht in der Regel so weit, daß keine sichtbare Menge der Flüssigkeit mehr vorhanden ist. Die in dem Sediment und an den Wänden dann noch haftenden Reste schaden nicht. Größere Mengen zurückbleibender Flüssigkeit bewirken Unschärfe des Endpunktes beim Titrieren und etwas zu hohe Werte. Man wische den Rand des Glases mit einem Tuch aus und gieße die in dem Kochkolben aufbewahrte Eisensulfatlösung sofort in das Zentrifugenglas und wasche sie zweimal mit je 1 ccm ausgekochtem destilliertem Wasser[1]) nach. Durch leichtes Schwenken wird der Nieder-

[1]) Erfahrungsgemäß darf das Wasser ohne Verschluß an der Luft abgekühlt sein, ohne daß man einen Fehler zu befürchten braucht.

schlag in Lösung gebracht und sofort titriert mit $^n/_{100}$-Permanganat, die am selben Tage aus $^n/_{10}$-Permanganat[1]) durch Verdünnen hergestellt worden ist. Man benutze eine Bürette, die 3 ccm faßt und in $^1/_{100}$ ccm geteilt ist. Die Größe der aus dem Glashahn abfallenden Tropfen soll etwa 0,028 ccm betragen. Man lasse die Permanganatlösung erst rasch, dann langsamer hinzu und bewege das Zentrifugierglas nicht lebhafter, als zur Verteilung der Tropfen eben nötig ist. Man beobachte gegen eine rein weiße Unterlage. Nähert man sich dem Ende der Titration, so beachte man genau folgende Vorschrift, die sich mir als die zweckmäßigste erwiesen hat.

Man lasse 2 Tropfen Permanganat auf einmal hinzu, verteile sie durch ganz leichte Bewegung, halte nun das Zentrifugenglas gegen die weiße Unterlage ganz ruhig und beobachte die Entfärbung. Man läßt zunächst so lange je 2 Tropfen hinzu, bis die auf diese Weise beobachtete Färbung 5 bis 7 Sekunden überdauert. Nunmehr schüttle man heftig, und zwar wiederum 5 bis 7 Sekunden lang. Tritt in dieser Zeit nachträglich völlige Entfärbung ein, so gebe man noch 2 Tropfen zu; ist die Entfärbung nicht vollkommen, so gebe man nur noch 1 Tropfen hinzu. Im Zweifelsfalle gebe man eher einen Tropfen zu viel als zu wenig zu. Jetzt lese man den Stand der Bürette ab. Auf diese Art der Ablesung bezieht sich die folgende empirische Eichung.

Parallelbestimmungen sind auf diese Weise auf mindestens 0,07 ccm reproduzierbar. Daraus ergibt sich für eine Einzelbestimmung eine Fehlergrenze von $\pm 2\,\%$ vom Mittelwert, wenn 1 mg Zucker titriert wird; von 5 bis $7\,\%$, wenn 0,4 bis 0,5 mg Zucker titriert wird. Die Werte sind daher für klinische Zwecke völlig genügend, wenn man 0,4 bis 0,5 mg Zucker zur Titration hat; sie erfüllen alle denkbaren Anforderungen auch für rein wissenschaftliche Aufgaben bei 1 mg. Bei einiger Übung wird man übrigens auch für 0,5 mg eine Genauigkeit von $\pm 4\,\%$ des wahren Wertes erreicht haben, und man erhöht die Genauigkeit durch eine Doppelbestimmung noch beträchtlich.

[1]) Erfahrungsgemäß ist die von Kahlbaum bezogene $^n/_{10}$-Lösung sehr gut haltbar und, nach Sörensen mit Natriumoxalat austitriert, auf besser als $1\,\%$ richtig.

Tabelle.

Permanganat ccm	Zucker mg	Permanganat ccm	Zucker mg
0,5	0,39	1,8	0,84
0,6	0,42	1,9	0,88
0,7	0,45	2,0	0,93
0,8	0,48	2,1	0,97
0,9	0,51	2,2	1,01
1,0	0,55	2,3	1,04
1,1	0,58	2,4	1,08
1,2	0,62	2,5	1,12
1,3	0,65	2,6	1,15
1,4	0,69	2,7	1,19
1,5	0,72	2,8	1,23
1,6	0,76	2,9	1,27
1,7	0,80	3,0	1,31

Nach Maßgabe des zur Bestimmung verwendeten aliquoten Teiles des Filtrates wird dann die gefundene Zuckermenge zur prozentischen Berechnung benutzt. Betrug der aliquote Teil also 10 ccm, so enthält die für die Bestimmung verwendete gesamte Blutmenge das Doppelte der gefundenen Milligramme Zucker usw.

Viele Nachuntersucher werden beim Anblick des voluminösen, auf dem Filter bleibenden Niederschlages bei der Enteiweißung den Eindruck haben, daß derselbe etwa Zucker „zurückhalten“ oder „adsorbieren“ könne. Wie wir aber früher nachgewiesen haben und wie sämtliche Kontrolluntersuchungen von Zuckermengen, die zu zuckerfreiem Blut zugegeben wurden, wiederum lehren, wird absolut keine Spur Zucker adsorbiert. Das Volumen der Niederschlagssubstanz selbst, so groß es scheinen mag, ist gegenüber der Gesamtmenge von 20 ccm ganz zu vernachlässigen, und das in dem Niederschlag capillar festgehaltene, nicht ausgepreßte Wasser hat genau den gleichen Zuckergehalt wie das durchfiltrierte Wasser. Die Ausführung der ganzen Bestimmung, vom Beginn der Enteiweißung bis zum Schluß, erfordert gewöhnlich kaum $^1/_2$ Stunde.

Die Methode läßt sich teils direkt, teils mit leichten Modifikationen bei der Enteiweißung auch für anderes Material als Blut anwenden.

Beispiele von Probebestimmungen:

1. An reinen Zuckerlösungen, ohne Enteiweißung.

Zur Analyse benutzte Zuckermenge	Permanganat	Durch Titration bestimmte Zuckermenge, unter Zugrundelegung der Eichungstabelle
mg	ccm	mg
0,5	0,89	0,507
0,5	0,86	0,496
0,5	0,92	0,518
0,5	0,82	0,486
0,5	0,85	0,495
1,0	2,18	1,00
0,75	1,59	0,756
0,75	1,64	0,776

2. Bestimmungen an geschlagenem Hammelblut, das durch 2 bis 3tägiges Stehen nachweislich restlos zuckerfrei geworden war, nach Zugabe bekannter Zuckermengen.

Hammelblut	Zugegebener Zucker	In 12,5 ccm Filtrat gefundene Menge	Wiedergefundener Zucker nach Umrechnung auf das Gesamtvolumen
ccm	mg	mg	mg
1	1,0	0,600	0,96
1	1,0	0,620	0,99
1	1,5	0,943	1,51
1	1,5	0,900	1,44
1	1,5	0,934	1,49
1	1,5	0,930	1,49

3. Zuckerbestimmungen am menschlichen Blut aus dem Finger.

		Angewendete Blutmenge	Zucker
Fall I: Parallelbestimmung	a)	1 ccm	0,0945%
	b)	1 „	0,0934%
	c)	1 „	0,0927%
Fall II: Parallelbestimmung	a)	0,124%	Dieselbe Bestimmung mit der alten Methode (Enteiweißung mit Eisenhydroxyd nach Michaelis und Rona, Reduktion nach Bertrand) in 20 ccm: 0,128%.
	b)	0,130%	
	c)	0,136%	
	d)	0,128%	

Beobachtungen über den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens.

Von

P. Rona und G. G. Wilenko.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 22. Dezember 1913.)

In den letzten Jahren sind einige bemerkenswerte Mitteilungen über Untersuchungen erschienen, deren Aufgabe es war, den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens unter verschiedenen pathologischen Verhältnissen zu studieren, so z. B. bei pankreaslosen Tieren, bei thyreoidektomierten, bei Tieren nach Wärmestich, unter Adrenalineinwirkung usw. Die nachfolgenden Versuche bezweckten hingegen, den Einfluß einiger Faktoren auf diesen Prozeß zu studieren, die noch mehr oder weniger in dem „physiologischen" Bereich liegen, um so möglicherweise sichere Grundlagen für die Erforschung weiterer Probleme zu gewinnen[1]).

Zunächst prüften wir, ob und in welchem Umfange Variationen der Zuckerkonzentration in der angewandten Durchspülungsflüssigkeit einen Einfluß auf den Zuckerverbrauch von seiten des Herzens ausüben. Was die Methodik der Versuche anlangt, so arbeiteten wir stets mit Kaninchenherzen, deren Zuckerverbrauch, im Gegensatz zu Katzenherzen, wohl infolge geringerer Glykogenvorräte, schon in den ersten Stunden der Durchspülung gut meßbar ist. Die Durchspülung erfolgte im Lockeschen Apparat, die Temperatur der das Herz durchströmenden Flüssigkeit betrug 38°. Die Zuckerbestimmung erfolgte wie in der Arbeit von G. G. Wilenko[2]) mittels der

[1]) Vgl. hierzu P. Rona und P. Neukirch, Arch. f. d. ges. Physiol. **148**, 285, 1912.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **71**, 261, 1913.

Bertrandschen Methode nach Enteiweißung mittels kolloidalem Eisenhydroxyd (Rona-Michaelis). Benutzt wurde für diese Versuche die von Tyrode empfohlene Nährlösung von der Zusammensetzung: NaCl 8 g, KCl 0,2 g, $CaCl_2$ 0,2 g, $MgCl_2$ 0,1 g, NaH_2PO_4 0,05 g, $NaHCO_3$ 1 g, Aq. dest. zu 1000 ccm.

Die Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle I.

Versuchsnummer	Datum — Gewicht des Tieres	Gewicht des Herzens g	Dauer des Versuchs	Menge der Durchspülungsflüssigkeit ccm	Zuckergehalt der Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs %	Zuckergehalt der Flüssigkeit nach Schluß des Versuchs %	Absolute Menge des verschwundenen Zuckers mg	Verschwundener Zucker pro g Herz und Stunde mg	Zahl der Tropfen, die das Herz in 1 Min. durchfließen	Zahl der Herzschläge pro Minute	Bemerkungen
1	27. X. 2300 g	7,8	1h30′	330	0,094	0,085	29,7	2,5	92—64	124—100	
2	5. XI. 2000 g	5,8	1h30′	330	0,112	0,103	29,7	3,4	104—70	120—100	p_H der Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs 8,29, am Schluß 8,12.
3	29. X. 2200 g	6,7	2h	320	0,186	0,172	44,8	3,3	—	144—136	
4	31. X. 2800 g	9,0	1h30′	330	0,316	0,302	46,2	3,4	200—120	124—92	p_H der Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs 7,98, am Schluß 8,02.
5	11. XI. 2600 g	6,9	1h30′	330	0,288	0,282	19,8	1,9	200—140	120—96	p_H der Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs 8,12, am Schluß 8,28.
6	4. XI. 3500 g	8,5	1h30′	330	0,376	0,366	33,2	2,6	200—136	152—146	p_H der Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs 8,32, am Schluß 8,30.

In diesen Versuchen schwankte die Zuckerkonzentration der Nährlösung zwischen 0,094 und 0,376 %. Eine Beeinflussung des Zuckerverlustes konnte durch die Variation dieses Faktors (innerhalb der geprüften Grenzen) nicht beobachtet werden. Die pro Gramm Herz und Stunde verschwundene Zuckermenge ist der Größenordnung nach (Versuch 5 etwa ausgenommen) ziemlich gleich, und beträgt durchschnittlich 2,8 mg. Soweit die vorliegenden Versuche einen Schluß erlauben, wird die Zerstörung resp. der Verbrauch an Zucker bei konstanten, für das glykolytische Ferment günstigen Bedingungen hauptsächlich von dem Glykogenvorrat des Herzens bedingt und nicht von der dem Herzen dargebotenen Zuckermenge.

In diesen Versuchen war mit der Tyrodeschen Nährlösung gearbeitet worden. Wandten wir eine Nährlösung an, deren Zusammensetzung nach der Vorschrift von Locke bereitet war (NaCl 9 g, KCl 0,2 g, $CaCl_2$ 0,2 g, $NaHCO_3$ 0,2 g, dest. Wasser zu 1000 ccm), so war der Zuckerverlust zu unserer Überraschung stets geringer.

Dies zeigt die folgende Tabelle.

Tabelle II.

Versuchsnummer	Datum — Gewicht des Tieres	Gewicht des Herzens g	Dauer des Versuchs	Menge der Durchspülungsflüssigkeit ccm	Zuckergehalt der Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs %	Zuckergehalt der Flüssigkeit nach Schluß des Versuchs %	Absolute Menge des verschwundenen Zuckers mg	Verschwundener Zucker pro g Herz und Stunde mg	Zahl der Tropfen, die das Herz in 1 Min. durchfließen	Zahl der Herzschläge pro Min.	Bemerkungen
7	7. II. 1500 g	4,5	2h	220	0,090	0,084	13,2	1,5	96—60	112—100	
8	11. II. 1600 g	5,5	2h	220	0,197	0,190	15,4	1,4	140—96	130—104	
9	13. II. 1500 g	6,2	2h	215	0,220	0,213	15,0	1,2	152—60	115—60	
10	14. II. 1500 g	5,5	2h	220	0,200	0,195	11,0	1,0	132—96	124—84	
11	24. II. 1900 g	7,5	2h	330	0,098	0,093	16,5	1,1	140—100	72—60	
12	12. III. 1500 g	5,5	1h 20′	330	0,096	0,093	9,9	1,3	108—72	132—104	
13	24. X. 2200 g	8,5	1h 45′	330	0,105	0,100	16,5	1,1	84—60	132—96	
14	12. XI. 2400 g	7,0	1h 30′	350	0,098	0,094	14,0	1,2	156—100	140—124	p_H ca. 20 Min. nach Beginn des Versuchs = 7,78; am Schluß des Versuchs = 7,49.
15	14. XI. 2900 g	9,5	1h 30′	310	0,093	0,088	15,5	1,1	168—96	120—78	p_H ca. 20 Min. nach Beginn des Versuchs = 7,80; am Schluß des Versuchs = 7,51.
16	20. XI. 2300 g	6,8	1h 30′	350	0,097	0,094	10,5	1,0	132—100	96—72	p_H ca. 20 Min. nach Beginn des Versuchs = 7,70; am Schluß des Versuchs = 7,59.
17	5. XII. 2400 g	7,3	1h 30′	350	0,097	0,091	21,0	1,9	120—88	120—128	p_H der Durchspülungsflüssigkeit vor d. Versuch = 7,04, etwa 15 Min. nach Beginn = 7,38.

Obgleich die sonstigen Bedingungen bei diesen Versuchen anscheinend die gleichen waren wie bei den ersterwähnten, war der Zuckerverlust, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, ein bedeutend geringerer: pro Gramm Herz und Stunde im Mittel 1,2 mg gegen 2,8 mg beim „Tyrode"-Versuch. Der höchste Wert in dieser Versuchsreihe (Vers. 17) fällt mit dem niedrigsten der ersten Reihe zusammen. Im allgemeinen bewegen sich hier die Werte um ca. 1 mg pro Gramm und Stunde, bei dem Tyrode-Versuch um ca. 2,5 mg. Es muß bemerkt werden, daß das Herz auch in der Locke-Lösung ausgezeichnet gearbeitet hat, anscheinend kaum schlechter als in der Tyrode-Lösung[1]).

Suchen wir nach der Erklärung für diese auffallende Tatsache, so könnte zunächst daran gedacht werden, daß die höhere Konzentration an Bicarbonat in der Tyrode-Lösung der für die Zuckerzerstörung förderliche Faktor ist. Dies war um so näherliegend, als die günstige Wirkung des Bicarbonats für die Glykolyse im Blut bereits von P. Rona und F. Arnheim[2]) beobachtet werden konnte. Die Versuche Nr. 18 und 19 in der Tabelle III zeigen auch, daß bei Erhöhung des Bicarbonatgehaltes auf 0,08% der Zuckerverbrauch gegenüber den früheren „Locke"-Versuchen bedeutend, auf 2,6 resp. 2,0 mg, gestiegen ist. Bei diesen Versuchen wurden auch Kontrollen angesetzt, um zu prüfen, ob unter Anwendung derselben Nährlösung mit dem höheren Bicarbonatgehalt bei 40° und mit ständiger Sauerstoffdurchleitung während der Dauer der „Herzversuche" ein Verschwinden des Zuckers beobachtet werden konnte. In keinem der Kontrollversuche war dies der Fall.

Bei dem Unterschied zwischen dem Verhalten der Tyrode- und der Locke-Lösung mußte man jedoch noch folgende Verhältnisse berücksichtigen. Die mit unserem kohlensäurehaltigen, gegen Neutralrot bereits deutlich sauren destillierten Wasser bereitete Locke-Lösung entfernt sich in ihrer Reaktion (d. h. $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration) schon deutlich von der $H^{\cdot}$-Ionenkonzen-

[1]) In einer früheren Arbeit (vgl. Rona und Neukirch, l. c.) fand sich eine begünstigende Wirkung der Tyrode-Lösung auf die Herztätigkeit. Zwischen der motorischen Arbeit des Herzens und dem Zuckerverbrauch besteht indes keine direkte Proportionalität. Bei schlecht arbeitenden Herzen findet man oft großen Zuckerverlust und umgekehrt.

[2]) Diese Zeitschr. 48, 35, 1913.

tration der Körperflüssigkeiten. Wir fanden sie bei etwa $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ [1]). Im Laufe des Versuchs während der Sauerstoffdurchleitung nimmt dann die Flüssigkeit, da die Kohlensäure ausgetrieben wird, eine alkalischere Reaktion an. Bei Entnahme einer Probe ca. 20 Minuten nach Beginn des Versuchs fanden wir $p_H = 7{,}46$ bis $7{,}81$, d.h. $[H^{\cdot}] = 0{,}34 \cdot 10^{-7}$ bis $0{,}16 \cdot 10^{-7}$. Gegen Ende des Versuchs sinkt die H·-Ionenkonzentration wieder ganz wenig, wohl infolge Abgabe von sauren Produkten (Milchsäure!) an die durchspülende Flüssigkeit von seiten des Herzens. Bei der Tyrode-Lösung haben wir von vornherein eine Flüssigkeit von höherer Alkalescenz vor uns, mit einer H·-Ionenkonzentration von etwa $0{,}2 \cdot 10^{-7}$, die während der Sauerstoffdurchleitung noch etwas, auf etwa $0{,}75 \cdot 10^{-8}$ bis $0{,}50 \cdot 10^{-8}$, sinkt. Eine Änderung der Reaktion nach weiterem Verlauf des Versuchs tritt hier nicht zutage, wahrscheinlich deshalb, weil in dem höheren Gehalt an Bicarbonat und in der Anwesenheit des Phosphats ein Gleichbleiben der vorhandenen H·-Ionenkonzentration eher gewährleistet wird.

Es war nun die Möglichkeit vorhanden, daß die, wenn auch relativ kurzdauernde Berührung des Herzens mit unserer etwas sauer reagierenden Lockeschen Lösung während der Durchspülung des Herzens vor seiner Einfügung in den Durchspülungsapparat, dann während der ersten Zeit des Versuches bis zur mehr oder minder weitgehenden Austreibung der Kohlensäure das glykolytische Ferment oder, allgemeiner gesagt, das glykolytische Vermögen der tätigen Herzmuskulatur geschädigt hat. Schon die oben erwähnte günstige Wirkung eines höheren Bicarbonatgehaltes der Nährlösung könnte auf die günstige Beeinflussung der H·-Ionenkonzentration zurückzuführen sein. Um diese Annahme zu prüfen, verfuhren wir so, daß wir das Herz beim Herauspräparieren nicht mit unserer gewöhnlichen Locke-Lösung, sondern mit einer 0,08% $NaHCO_3$-haltigen durchspülten und das Herz an den Apparat schlossen, nachdem durch die im Apparat befindliche Locke-Lösung $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunde ständig

[1]) Sämtliche H·-Ionenkonzentrationen, die in dieser Arbeit erwähnt sind, wurden elektrometrisch nach Michaelis und Davidoff (bei 18°) bestimmt. Bei Anwendung einer „Locke"-Lösung mit nur 0,1‰ $NaHCO_3$ wurde der Anfangswert der H·-Ionenkonzentration noch höher (bei etwa $0{,}4 \cdot 10^{-6}$) gefunden. Vgl. Rona und Neukirch, l. c.

Sauerstoff geleitet worden war. Die H'-Ionenkonzentration der Lösung betrug dann $0{,}38 \cdot 10^{-7}$ bis $0{,}16 \cdot 10^{-7}$.

Tabelle III.

Versuchsnummer	Datum — Gewicht des Tieres	Gewicht des Herzens g	Dauer des Versuchs	Menge der Durchspülungsflüssigkeit ccm	Zuckergehalt der Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs %	Zuckergehalt der Flüssigkeit nach Schluß des Versuchs %	Absolute Menge des verschwundenen Zuckers mg	Verschwundener Zucker pro g Herz und Stunde mg	Zahl der Tropfen, die das Herz in 1 Min. durchfließen	Zahl der Herzschläge pro Minute	Bemerkungen
18	21. XI. 2300 g	9,4	1h 30′	350	0,088	0,080	28,0	2,0	92—60	104—64	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs = 7,97, am Schluß = 8,32.
19	27. XI. 2000 g	6,3	1h 30′	350	0,095	0,088	24,5	2,6	51—30	100—70	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit bei Beginn des Versuchs = 7,94, am Schluß = 8,26.
20	1. XII. 2100 g	6,4	1h 30′	350	0,090	0,082	28,0	2,9	112—84	128—104	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit 3/4 Std. nach Beginn des Versuchs = 7,82.
21	2. XII. 2200 g	6,5	1h 30′	350	0,092	0,085	24,5	2,5	100—90	124—104	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 6,90; 3/4 Std. nach Beginn d. Versuchs = 7,63; am Schluß des Versuchs = 7,38.
22	4. XII. 2350 g	6,5	1h 30′	350	0,086	0,074	42,0	4,3	120—108	140—116	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 6,93; 3/4 Std. nach Beginn d. Versuchs = 7,46; am Schluß des Versuchs = 7,42.
23	10. XII. 2600 g	10,2	1h 30′	340	0,085	0,073	40,8	2,7	120—88	120—100	p_H d. Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 7,01; 3/4 Std. nach Beginn d. Versuchs = 7,52.

Es ergab sich nun, daß wir bei den in dieser Richtung angestellten Versuchen (vgl. Versuch 20 bis 33, Tabelle III) bedeutend höhere Werte für den Zuckerverlust gefunden haben als in unseren früheren Locke-Versuchen, und zwar 2,9, 2,5, 2,7, in einem Versuche (Nr. 22) sogar 4,3 mg pro Gramm Herz und Stunde. Vergleichen wir nun die mit Locke unter den angegebenen modifizierten Bedingungen angestellten Versuche (Tabelle III) mit den Tyrode-Versuchen, so sind die Mittelwerte, selbst wenn wir die besonders hohe Zahl des 22. Ver-

suchs außer acht lassen, in beiden Reihen gut übereinstimmend; bei den Tyrode-Versuchen 2,85, bei den Locke-Versuchen ohne Versuch 22 2,54 mg pro Gramm und Stunde, mit Versuch 22 2,83 mg pro Gramm und Stunde.

Durch geringfügige Änderungen in der Zusammensetzung der Nährlösung sehen wir demnach nennenswerte Unterschiede in dem Zuckerverbrauch des tätigen Herzens oder richtiger gesagt in dem Zuckerverlust bei der Durchspülung des überlebenden Kaninchenherzens mit einer zuckerhaltigen Salzlösung[1]). Daraus ergibt sich zunächst in methodischer Hinsicht, daß bei all diesen Versuchen auf die richtige H'-Ionenkonzentration der Lösung geachtet werden muß und etwaige abweichende Resultate verschiedener Forscher, wie auch Differenzen in den Befunden eines und desselben Forschers[2]) in verschiedenen anscheinend gleich angestellten Versuchsreihen wenigstens in manchen Fällen auf das Übersehen dieses Punktes zurückgeführt werden können. Es ist klar, und darauf sei ausdrücklich hingewiesen, daß es sich hier nicht darum handelt, ob etwa die Lockesche oder die Tyrodesche Nährlösung die geeignetere Durchspülungsflüssigkeit ist. Das Herz arbeitet in der Locke-Lösung ganz ausgezeichnet und ihre gegebenenfalls sauerere Reaktion kann leicht vermieden werden, wenn eine Zeitlang Sauerstoff durch die Flüssigkeit geleitet wird. Prinzipiell wichtig ist hingegen die Rolle, die die H'-Ionenkonzentration bei der Zuckerspaltung ausübt.

Ob hierbei das Überschreiten einer bestimmten H'-Ionenkonzentration überhaupt oder auch die Kohlensäure als solche schädlich wirkt, werden weitere Untersuchungen lehren.

Eine Hemmung der Glykolyse im Blut bei CO_2-Durch-

---

[1]) Bei diesem Zuckerverlust könnte es sich auch um eine Synthese des Zuckers zu Glykogen handeln. Da aber beim Durchströmungsversuch Abbauprodukte des Zuckers, Milchsäure, CO_2, sicher nachgewiesen worden sind, so werden wir wohl nicht fehlgehen, den Zuckerverlust auf eine Zuckerzerstörung während des Versuches zurückzuführen.

[2]) Vgl. hierzu die Grazer Versuche von G. G. Wilenko, l. c. Bei diesen mit Locke-Lösung, die mit einem destillierten Wasser von niedrigerem Säuregehalt bereitet wurde, angestellten Versuchen war der Zuckerverbrauch pro Gramm und Stunde 2,2 bis 2,8 mg. Vgl. auch O. Loewi und Beselko, Münch. med. Wochenschr. 1913, 690, ferner G. Mansfeld, Centralbl. f. Physiol. 27, 267, 1913.

leitung haben früher **Rona und Döblin**[1]) beobachtet. Daß die Erhöhung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration als solche die Zuckerzerstörung äußerst ungünstig beeinflußt, zeigen auch die folgenden Versuche (Tabelle IV). Bei diesen benutzten wir eine Durchspülungsflüssigkeit von der Zusammensetzung der Lockeschen, erhöhten jedoch die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration, indem wir der Lösung primäres Natriumphosphat zu $1\,^0/_{00}$ zusetzten. Sonst war die Anordnung wie in den früheren Versuchen. Das Herz arbeitete in der Lösung ausgezeichnet.

Tabelle IV.

Versuchsnummer	Datum — Gewicht des Tieres	Gewicht des Herzens g	Dauer des Versuchs	Menge der Durchspülungsflüssigkeit ccm	Zuckergehalt der Flüssigkeit bei Beginn des Versuchs %	Zuckergehalt der Flüssigkeit nach Schluß des Versuchs %	Absolute Menge des verschwundenen Zuckers mg	Verschwundener Zucker pro g Herz und Stunde mg	Zahl der Tropfen, die das Herz in 1 Min. durchfließen	Zahl der Herzschläge pro Minute	Bemerkungen
24	18. XII. 3100 g	9,5	1h 30′	280	0,102	0,101	2,8	0,2	168—100	132—100	p_H der Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 6,41; 30 Min. nach Beginn des Versuchs = 6,9; nach Schluß des Versuchs = 6,9.
25	19. XII. 2500 g	9,3	1h 30′	280	0,101	0,098	5,6	0,6	147—83	100—65	p_H der Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 6,41; 30 Min. nach Beginn des Versuchs = 7,27; nach Schluß des Versuchs = 7,23.
26	20. XII. 2800 g	8,2	1h 30′	280	0,106	0,102	6,6	0,8	90—50	80—60	p_H der Durchspülungsflüssigkeit vor dem Versuch = 6,41; 30 Min. nach Beginn des Versuchs = 7,11; nach Schluß des Versuchs = 7,27.

Eine kurz dauernde Berührung des Herzens mit einer Flüssigkeit von $[H^{\cdot}] = 3{,}9 \cdot 10^{-7}$ und eine $[H^{\cdot}]$ während des Versuches von ca. $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ bis $7{,}7 \cdot 10^{-8}$ genügte demnach, die Zuckerzerstörung auf einen äußerst kleinen Betrag herunterzudrücken, auf einen noch niedrigeren als bei der ursprünglichen Locke-

[1]) Diese Zeitschr. **32**, 489, 1911.

Lösung. Der einzige Unterschied gegen diese war eine geringe Menge von primärem Phosphat. Obgleich Phosphate im allgemeinen bei glykolytischen Prozessen günstig wirken, sehen wir hier eine entgegengesetzte Beeinflussung. Dies kann nur auf die größere H'-Ionenkonzentration zurückgeführt werden.

Von nicht geringem Interesse ist ein möglicher Zusammenhang des Befundes über die Säurewirkung auf den Zuckerverbrauch mit wichtigen Problemen der verschiedenen Diabetesarten. Eine erhöhte „Säuerung" ist bereits vielfach in ursächlichen Zusammenhang mit der verminderten Zuckerverbrennung beim schweren Diabetes gebracht worden, was auch in der „Alkali-Therapie" des Diabetes zum Ausdruck kommt[1]). Daß beim Coma diabeticum eine erhöhte H'-Ionenkonzentration des Blutes bei starker Hyperglykämie nicht nachgewiesen werden konnte[2]), spricht nicht gegen die Auffassung, daß diese Hyperglykämie mit einer Acidosis in Zusammenhang steht. Durch ausgiebigere Kohlensäureausscheidung durch die Lungen, mittels erhöhter Lungenventilation, ferner durch Ausscheidung eines saureren Harnes ist der Organismus stets in der Lage, die H'-Ionenkonzentration des Blutes konstant zu erhalten. Die Konstanz der Blutreaktion schließt eine lokale Zunahme der H'-Konzentration in bestimmten Zellen und Geweben jedoch keineswegs aus.

Auch bei dem Hungerdiabetes[3]) wie bei der Hyperglykämie in der Asphyxie ist der höheren H'-Ionenkonzentration eine wichtige Rolle zugeschrieben worden.

Jedenfalls ergibt sich aus den Versuchen, daß die Reaktion (H'-Konzentration) der Durchspülungsflüssigkeit von großer Bedeutung für den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens ist.

Schon eine nur wenig von der normalen Blutreaktion abweichende H'-Ionenkonzentration nach der sauren Seite hin genügt, das glykolytische Ferment so zu beeinflussen, daß der dem Herzen von außen dargebotene Zucker nicht angegriffen wird.

---

[1]) Vgl. hierzu auch H. Elias, diese Zeitschr. 48, 121, 1913. Vgl. auch O. Porges, A. Leimdörfer und E. Markovici, Zeitschr. f. klin. Med. 73, 1, 1913. Ferner auch W. Weiland, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 12, 116, 1913.

[2]) Masil, Zeitschr. f. klin. Med. 79, 1, 1913. Vgl. auch Benedikt, Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 106, 1906.

[3]) Vgl. H. Elias und L. Kolb, diese Zeitschr. 52, 331, 1913.

Aus den vorstehenden experimentellen Ergebnissen folgt, daß der richtigen H·-Konzentration, die, wie wir sahen, bereits durch den wechselnden Kohlensäuregehalt der Flüssigkeit wesentlich beeinflußt wird, bei der Ausführung der Versuche die nötige Achtung geschenkt werden muß. — Es liegt nahe, anzunehmen, daß wir hier einem der wichtigen Faktoren für den niedrigen Zuckerverbrauch bei gewissen Diabetesarten experimentell näher gekommen sind. Die Versuchsergebnisse gewinnen dadurch an Bedeutung. Doch müssen wir bei der Übertragung der Befunde auf pathologische Vorgänge im lebenden Organismus die nötige Vorsicht walten lassen. Für die Alkali-Therapie beim Diabetes gewännen wir durch die vorliegenden Befunde ein besseres Verständnis. Vorläufig sollen diese Überlegungen uns als Grundlage für weitere Fragestellungen und Untersuchungen dienen.

Zur Kenntnis der biochemischen Reduktionsvorgänge in Hefezellen.

Die Umwandlung von Isobutylaldehyd und Isobutylalkohol und von Önanthol in n-Heptylalkohol.

Von

Kohshi Ohta, Tokio.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 1. November 1913.)

Die Mehrzahl der bekannten Stoffwechselvorgänge ist, von einfachen, hydrolytischen Spaltungen abgesehen, oxydativer Natur; sie vollziehen sich in letzter Linie auf Kosten des atmosphärischen Sauerstoffes.

Weit geringer sind unsere Kenntnisse von den wichtigen Reduktionsvorgängen, die bei der synthetischen Leistung der lebenden Organismen eine bedeutsame Rolle spielen.

Nach neuerer Erfahrung liegen in Hefezellen Agenzien vor, welche eine Verfolgung dieser wichtigen Reduktionsvorgänge ermöglichen.

Sowohl die Bildung des Äthylalkohols bei der Alkoholgärung des Zuckers als die Entstehung der höheren Alkohole des Fuselöls vollzieht sich allem Anscheine nach über die Stufe der entsprechenden Aldehyde. So ist neuerdings Neuberg und Steenbock[1]) die Darstellung von Gärungsamylalkohol aus Valeraldehyd unter Benutzung der reduzierenden Kraft der Hefezellen gelungen.

Wenn die Anschauung von der natürlichen Entstehungsweise der Fuselölalkohole auf dem Wege über die zugehörigen Aldehyde richtig ist, so war zu erwarten, daß auch die Reduktion des Isobutylaldehyds zu Isobutylalkohol von der Hefezelle bewirkt werden kann. Denn der Isobutylalkohol ist

[1]) C. Neuberg und H. Steenbock, diese Zeitschr. **52**, 494, 1913; **59**, 188, 1914.

ein konstanter Bestandteil vieler natürlichen Gärungserzeugnisse und kann z. B. ein Viertel der gesamten Menge des Kartoffelfuselöls ausmachen.

Tatsächlich zeigen die im folgenden mitgeteilten Versuche, daß gärender Hefe zugesetzter Isobutylaldehyd in Isobutylalkohol umgewandelt wird. Zwar konnte nur eine Ausbeute von etwa 28 % der theoretischen Menge erreicht werden. Allein die Schwierigkeit, den bei der Gärung gebildeten gewöhnlichen Alkohol vom Isobutylalkohol zu trennen, ist bei kleinen Mengen nicht unbedeutend, und es ist auch nicht leicht, während der Zugabe des Isobutylaldehyds zu gärender Zuckerlösung eine Verflüchtigung mit der entwickelten Kohlensäure zu vermeiden.

Es kann jedoch kein Zweifel bestehen, daß sich durch Hefe aus Isobutylaldehyd Isobutylalkohol erzeugen läßt.

Von besonderem Interesse war die Feststellung, ob Hefe auch imstande sei, ihrem Organismus fremde Aldehyde dieser Reihe zu entsprechenden Alkoholen zu reduzieren. Ich wählte zu solchen Versuchen das Önanthol, den normalen Heptylaldehyd. Zwar findet sich in der Literatur die Angabe, daß Heptylalkohol in Fuselöl vorkomme; allein die Menge, um die es sich hier handelt, ist so gering, daß eine sichere Identifizierung des „Gärungsheptylalkohols" niemals erreicht worden ist, und es ist ganz ungewiß, ob je normaler Heptylalkohol vorgelegen hat.

Die Reduktion des Önanthols zu normalem Heptylalkohol erfolgt durch gärende Hefe genau wie bei niederen aliphatischen Aldehyden. Allein der Zusatz von Önanthol zur gärenden Zuckerlösung schädigt den Gärungsakt recht erheblich. Es kann bei unvorsichtiger Zugabe von Heptylaldehyd eine vollständige Unterdrückung der Gärung[1]) vorkommen. Bei richtig geleiteter Zufügung kann man jedoch die Gärung im Gang halten und eine langsame Umwandlung des Önanthols in Heptylalkohol erreichen. Es wurden beträchtliche Mengen Nebenprodukte gebildet, immerhin aber gegen 50 % der möglichen Menge an Heptylalkohol schließlich isoliert.

Die Hefen sind sicherlich imstande, die verschiedensten Aldehyde zu reduzieren.

[1]) Die verschiedenen Heferassen weisen ungleiche Empfindlichkeit gegen zugefügte Aldehyde auf.

Experimenteller Teil.

I. Bildung des Isobutylalkohols aus Isobutylaldehyd.

Zu den Versuchen wurde als Ausgangsmaterial Isobutylaldehyd von Kahlbaum verwendet, der recht unrein war und durch wiederholtes Fraktionieren gereinigt werden mußte. Ein Präparat mit ganz scharfem Siedepunkt habe ich überhaupt nicht hieraus darstellen können und mich auf die Verwendung der bei 60° bis 64° siedenden Fraktion beschränkt.

Versuch 1.

5 g von diesem Aldehyd wurden zu einem gärenden Gemisch von 150 g Rohrzucker, 150 g Hefe XII und 1500 ccm Wasser gesetzt. Man beginnt mit dem Eintragen des Aldehyds, sobald sich die Zuckerlösung in lebhafter Gärung befindet. Am besten läßt man den Aldehyd durch einen Tropftrichter in einem solchen Tempo hinzufließen, daß etwa alle 10 Sekunden ein Tropfen herabfällt. Wegen der Leichtflüchtigkeit des Aldehyds führt man den Tropftrichter durch einen Stopfen, der zugleich ein zwei Meter langes Steigrohr mit einer Schleife in der Mitte trägt.

Der Zusatz des Aldehyds verlangsamt die Gärung, bringt sie jedoch unter der angeführten Versuchsbedingung nicht zum Stillstande. Nach dreitägigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde das Gärgut in kupferne Destilliergefäße gebracht, und aus diesen wurden dann 800 ccm übergetrieben. Nach Zugabe von 800 ccm Wasser zum Rückstande wurden weitere 400 ccm abdestilliert. Durch eine erneute Destillation wurden die 1200 ccm des Destillats auf 800 ccm gebracht. Diese wurden 4 mal mit 200 ccm Äther ausgezogen. Die vereinigten Ätherauszüge wurden sodann einen Tag lang über frisch geglühtem Natriumsulfat entwässert, filtriert und der Rückstand mit abs. Äther ausgewaschen. Alsdann wurde der Äther mit einem Fünfkugelrohr bei 35° übergetrieben. Der Rückstand wurde nochmals über geglühtem Kupfersulfat getrocknet und dann am Birektifikator von allen bis 100° siedenden Beimengungen befreit. Die übrigbleibende Flüssigkeit wurde in einen kleinen Fraktionierkolben übergeführt und lieferte 1,2 g = 23,3% der Theorie einer von 106° bis 110° siedenden Fraktion. Diese stellt Isobutylalkohol dar, dessen Siedepunkt zwischen 106° und 109° in der Literatur angegeben wird.

Versuch 2.

Ein gleicher Versuch wurde mit 150 g Hefe M, 150 g Zucker, 1500 ccm Wasser sowie 10,8 g Isobutylaldehyd angestellt. Das Gemisch blieb 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wurde dann am 2. Tage 4 Stunden lang im Wasserbade auf 35° bis 37° erwärmt, wobei langsam die Gärung wieder verstärkt wurde. Dann wurde die Mischung noch den 3. Tag bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die weitere Verarbeitung geschah wie bei Versuch 1 und lieferte 2,9 g = 28% der Theorie Isobutylalkohol, der zwischen 106° bis 110° siedete.

Versuch 3.

In zwei Ansätzen wurden je 150 g Hefe M, 150 g Rohrzucker, 1500 ccm Wasser und 10 g Isobutylaldehyd, genau wie bei Versuch 1 geschildert, digeriert. Die beiden Ansätze wurden vereinigt und durch eine Reihe von Destillationen auf 1000 ccm gebracht. Diese wurden gründlich dreimal mit 300 ccm Äther ausgeäthert; die wässerige Lösung wurde dann mit kohlensaurem Kalium gesättigt und abermals mit Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wurden alsdann in mehrfach beschriebener Weise über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und sukzessive mit einem Kugelrohr von Äther und am Birektifikator von niedrig siedenden Beimengungen, hauptsächlich von Äthylalkohol, befreit. Die Fraktionierung lieferte 4,9 g = 23,1% der Theorie an Isobutylalkohol.

Zwecks der Identifizierung des Isobutylalkohols wurde nach der Angabe von Neuberg und Kansky[1]) das α-Naphthylurethan dargestellt. Die aus Ligroin umkrystallisierte Substanz hatte folgende Zusammensetzung:

0,1380 g Substanz gaben 6,8 ccm N (17°, 764 mm).

$C_{15}H_{17}O_2N$. Berechnet N 5,75%; gefunden N 5,83%.

II. Bildung des n-Heptylalkohols aus Önanthol.

Verwendet wurde käufliches Önanthol, das erst nach mehrfachem Fraktionieren ein konstant siedendes Produkt lieferte.

Die Anordnung der Versuche schließt sich eng an diejenige mit Isobutylaldehyd an. Auffallend ist die schädliche Wirkung dieses höheren Aldehyds auf die Gärung des Rohrzuckers. Da

[1]) C. Neuberg und E. Kansky, diese Zeitschr. 20, 445, 1909.

die Gärung bei Zimmertemperatur unter Umständen fast völlig sistierte, so mußte sie durch Einstellen in ein Wasserbad von 37° wieder in Gang gebracht werden. Dementsprechend verschwand der Geruch nach Önanthol erst nach 3 bis 4 Tagen. Die Digestion wurde hier bis auf eine Woche ausgedehnt.

Die weitere Verarbeitung geschah wie bei den Versuchen mit Isobutylaldehyd. Auch hier leistete der Birektifikator ausgezeichnete Dienste zur Trennung. Die bei 175° übergehende Fraktion bestand aus Normal-Heptylalkohol, für den im reinen Zustand der Siedepunkt 173° bis 176° angegeben wird. Eine weitere Fraktionierung ist der kleinen Mengen wegen nicht möglich. Daß tatsächlich Heptylalkohol vorliegt, wurde durch die Überführung in α-Naphthylurethan sichergestellt, das sich leicht krystallinisch erhalten läßt.

Die aus Ligroin erhaltenen Krystalle des n-Heptyl-α-naphthyl-urethans schmelzen bei 97°.

0,1537 g Substanz ergaben 6,4 ccm N (16°, 752 mm).

$C_{18}H_{23}O_2N$. Berechnet N 4,91%, gefunden N 4,87%.

Im einzelnen wurden folgende Mengen verarbeitet.

Versuch 4.

250 g Rohrzucker, 250 g Hefe XII, 2000 ccm Wasser und 4,6 g Önanthol wurden 8 Tage stehen gelassen. Ausbeute 2,7 g Heptylalkohol gleich 51% der Theorie.

Versuch 5.

200 g Hefe M, 200 g Rohrzucker, 2000 ccm Wasser und 9 g Önanthol. Nach 5tägiger Digestion bei Zimmertemperatur wurde noch zwei Tage im Brutschrank stehen gelassen. Ausbeute 3,0 g = ca. 30%.

Versuch 6.

Es wurde 2 mal 150 g Rohrzucker, 150 g Hefe M, 1800 ccm Wasser und 6 g Önanthol angesetzt. Die vereinigte Verarbeitung beider Ansätze lieferte 6,2 g Heptylalkohol gleich rund 50% der Theorie.

In allen Versuchen mit Önanthol wurden neben dem n-Heptylalkohol nicht unbeträchtliche Mengen höher siedender Substanzen erhalten, die sauer reagierten und gelbe, dickflüssige Liquida darstellten.

Über die Bildung höherer Alkohole aus Aldehyden durch Hefe. II.

Weiteres über die Entstehung von Amylalkohol aus Valeraldehyd, insbesondere über die enzymatische Natur dieser Reaktion.

Von

C. Neuberg und H. Steenbock.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

In unserer ersten Mitteilung[1]) über diesen Gegenstand haben wir gezeigt, daß „Valeraldehyd", d. i. das Gemisch von Isovaleraldehyd und optisch-aktivem Valeraldehyd, durch frische Hefe sowohl in Gegenwart als in Abwesenheit von gärendem Zucker in „Amylalkohol", d. h. in ein Gemisch von Isoamylalkohol und optisch-aktivem Amylalkohol, übergeführt wird.

Angesichts der Bedeutung, die diese Reduktion höherer Aldehyde für verschiedene Fragen der Gärungsphysiologie besitzt und die wir früher dargelegt haben, schien es uns wünschenswert, die damaligen Feststellungen nach verschiedenen Richtungen zu erweitern.

Während die Reduktion des Valeraldehyds durch lebende Hefe in Gegenwart von Zucker mit recht guten Ausbeuten durchgeführt werden konnte, erreichte die Umwandlung durch Hefe allein einen geringeren Umfang.

Daher versuchten wir zunächst durch Verwendung größerer Mengen Hefe ein besseres Ergebnis zu erzielen.

A.

400 g Hefe XII wurden mit 2000 ccm Leitungswasser in einer 5-l-Flasche emulsioniert. Hierzu wurde im Verlaufe von

[1]) C. Neuberg und H. Steenbock, diese Zeitschr. 52, 494, 1913.

3 Stunden unter vielfachem Umschütteln eine Menge von 17,2 g „Valeraldehyd" vom Siedepunkt 91 bis 93° zutropfen gelassen. Nach 2 tägigem Stehen bei Zimmertemperatur (Sommer 1913) war noch deutlich Aldehydgeruch wahrnehmbar. Da vielleicht die Reduktion durch höhere Temperatur zu vervollständigen gewesen wäre, wurde die Flasche zwei weitere Tage im Brutschrank bei 36° belassen.

Obgleich nach dieser Zeit der Geruch nach „Valeraldehyd" noch nicht verschwunden war, wurde die Aufarbeitung vorgenommen und folgendermaßen ausgeführt:

Aus einer kupfernen Destillierblase wurde 1 l übergetrieben. Der Rückstand wurde mit 1 l Wasser versetzt und von dem Gemisch nochmals 1 l abdestilliert.

Die vereinigten 2 l Destillat wurden durch anreichernde Destillation zunächst auf 1300 ccm und dann auf 900 ccm gebracht. Diese 900 ccm wurden 6 mal mit 150 ccm Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherextrakte wurden mit Bisulfitlösung durchgeschüttelt, mit wenig Wasser gewaschen und alsdann über geglühtem Glaubersalz einen Tag lang getrocknet.

Nunmehr wurde aus einem Jenenser Kolben mit einem 8-Kugelrohr die Hauptmenge des Äthers abdestilliert und der Rückstand (etwa 150 ccm) nochmals über frisch geglühtem Kupfersulfat sorgfältig getrocknet.

Die so behandelte ätherische Lösung wurde vorsichtig am Birektificator abdestilliert und alles verworfen, was bis 126° sott. Dann wurden 3 g einer Fraktion von 127 bis 134° gewonnen.

Der Rückstand wurde aus einem gewöhnlichen Fraktionierkolben weiter destilliert und lieferte:

4,0	g	einer	Fraktion	vom	Siedepunkt	135	bis	145°
1,25	g	„	„	„	„	146	„	155°
2,1	g	„	„	„	„	156	„	185°
4,05	g	„	„	„	„	186	„	192°.

Die Fraktion 127 bis 134° zeigte alle typischen Eigenschaften von Gärungsamylalkohol.

Um auch ein krystallisiertes Derivat zu haben, wurde nach der Vorschrift von Neuberg und Kansky[1]) das α-Naph-

[1]) C. Neuberg und E. Kansky, diese Zeitschr. 20, 445, 1909.

thylurethan dargestellt, indem 1,0 g der Flüssigkeit mit 1,7 g α-Naphthylisocyanat kurze Zeit erwärmt wurden. Alsbald trat Krystallisation ein, und das 2 mal aus Ligroin umkrystallisierte Produkt schmolz bei 64°.

0,1980 g Substanz: 9,6 ccm N (19°, 754 mm).

$C_{16}H_{19}O_2N$. Ber. N = 5,45%.
Gef. N = 5,51%.

Demnach liegt „Amyl-α-naphthylurethan“[1]) vor.

Unzweifelhaft wird also ein Teil des „Valeraldehyds“ allein durch lebende Hefe in „Amylalkohol“ umgewandelt. Die Ausbeute, die 17% der berechneten Menge betrug, konnte jedoch gegen unsere früheren Ergebnisse nicht gesteigert werden.

Eine Identifizierung der höher siedenden Fraktionen haben wir nicht unternommen. Nur die von 186 bis 192° übergegangene Fraktion, in der wir einen um 190° herum siedenden Valeriansäureamylester vermuteten, haben wir näher untersucht. Allein eine Verseifung durch Kochen mit 10%iger Natronlauge gelang nicht.

B.

Die Bildung der Fuselölalkohole aus stickstoffhaltigen Maischematerialien vollzieht sich lediglich in Gegenwart von gärfähigem Zucker und nur durch lebende Hefe[2]). E. Buchner und J. Meisenheimer[3]) sowie H. Pringsheim[4]) haben diesen Prozeß so wenig wie Ehrlich vom Leben der Hefe rennen können. O. Neubauer und K. Fromherz[5]) haben den wichtigen Nachweis geliefert, daß dieselben Alkohole gebildet werden, wenn man anstatt der Aminosäuren den entsprechenden Ketosäuren Zuckerlösungen zufügt, die mit frischer Hefe in Gärung versetzt sind.

In keinem dieser Fälle sind also höhere Alkohole ohne Mitwirkung von lebenden Hefezellen bisher gewonnen worden.

---

[1]) Für das Derivat des reinen Isoamylalkohols ist früher der Schmelzpunkt 67 bis 68°, für das des reinen optisch-aktiven Alkohols der Schmelzpunkt 82° gefunden. Im vorliegenden Falle handelt es sich naturgemäß um ein Gemisch.

[2]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. 2, 52, 1906; 36, 496, 1911.

[3]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. 39, 3201, 1906; 43 1774, 1910.

[4]) H. Pringsheim, Ber. 39, 3713, 1906.

[5]) O. Neubauer und K. Fromherz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 326, 1911.

Da immer mehr die Anschauung[1]) an Wahrscheinlichkeit gewinnt, daß ganz allgemein Aldehyde die Durchgangsstufe bei der Bildung von Alkoholen bei der Gärung darstellen, so hat die Frage prinzipielle Bedeutung, ob die Alkohole des Fuselöls auch durch zellfreie Gärung aus den entsprechenden Aldehyden hervorgehen können.

Wir haben deshalb mehrere Versuche mit zellfreiem Material, mit dem bewährten Macerationssaft von v. Lebedew, angestellt. Hefemacerationssaft ist imstande, bei Gegenwart[2]) von Zucker Valeraldehyd in Amylalkohol überzuführen. Damit ist die Reaktion als eine enzymatische gekennzeichnet.

1. Zunächst wurden in 500 ccm Lebedew-Saft 50 g Rohrzucker aufgelöst und das Gemisch bei 38° bis zum Eintritt lebhafter Gärung aufbewahrt. Dann wurden innerhalb 3 Stunden 4,3 g „Valeraldehyd" (vom Siedepunkt 91 bis 93°) aus einem Tropftrichter hinzugegeben. Es trat eine deutliche Verlangsamung der Gärung und eine Trübung der Mischung ein. Doch war die CO_2-Entwicklung noch nach 2 Tagen im Gange. Von dem Zusatz eines besonderen Antisepticums konnte in diesen Versuchen mit „Valeraldehyd" abgesehen werden.

2. Genau in gleicher Weise wurden 650 ccm Saft, 130 g Rohrzucker sowie 5,6 g „Valeraldehyd" angesetzt. Bei dieser höheren Zuckerkonzentration war noch nach 5 Tagen die Gärung deutlich.

3. Das Gemisch von 800 ccm Saft, 160 g Saccharose und 6,9 g „Valeraldehyd" verhielt sich ganz ebenso.

Am 6. Tage wurden alle 3 Ansätze vereinigt, mit der gleichen Menge Wasser vermischt und wegen des hohen Eiweißgehaltes äußerst vorsichtig und langsam aus einem Kupfergefäß abdestilliert. Nachdem 2 l übergegangen waren, wurde 1 l Wasser nachgefüllt und wiederum 1 l übergetrieben, die vereinigten Destillate wurden annähernd — durch jedesmaliges Abdestillieren von etwa $^2/_3$ des Volumens — auf 800 ccm gebracht. Dieses Quantum wurde 7 mal, im ganzen mit 800 ccm,

[1]) Siehe bei C. Neuberg, Die Gärungsvorgänge. Monogr. Jena 1913, S. 32 bis 33.

[2]) Ob auch bei Verwendung von Hefensaft der Zucker fortfallen kann, ist noch nicht untersucht.

Äther extrahiert Die Ätherlösung wurde mit Bisulfit durchgeschüttelt, gewaschen und über frisch geglühtem Glaubersalz sowie über wasserfreiem Kupfersulfat getrocknet. Der Äther wurde am Birektificator abgetrieben und alles abdestilliert, was bis 126° überging. Die weitere Fraktionierung geschah aus einem gewöhnlichen Destillationskolben und lieferte 2,1 g Destillat vom Siedepunkt 127 bis 134° sowie das Doppelte (4,3 g) an Nachlauf, der ohne erkennbaren Gehalt an einer einheitlichen Fraktion von 136 bis 215° sott.

Die ersichtliche Hauptfraktion (Siedep. 127 bis 134°) roch intensiv nach Amylalkohol.

Zur sicheren Identifizierung desselben wurde in der angegebenen Weise mittels α-Naphthylisocyanat das α-Naphthylurethan dargestellt, das sich schnell abschied und nach Umkrystallisation aus Ligroin bei 62 bis 63° schmolz.

0,1472 g Substanz: 7,3 ccm N (17°, 762 mm)

$C_{16}H_{19}O_2N$. Ber. N = 5,45%.
Gef. N = 5,77%.

Die Ausbeute an isoliertem Amylalkohol betrug 12,2%. Es kann jedoch kaum zweifelhaft sein, daß mit den Gärungsgasen, den Ätherdämpfen und dem Vorlaufe ein Teil verloren gegangen ist.

Nachtrag.

Versehentlich sind in unserer I. Mitteilung über diesen Gegenstand einige Analysen weggelassen. Sie seien hier angeführt.

α) **Amylalkohol** aus Versuch 1.

$C_5H_{11}OH$. Ber. C = 68,18; H = 13,62%.
Gef. C = 68,24; H = 13,87%.

β) **Amylalkohol** aus Versuch 6.

α-Naphthylurethan (F. 64°).

0,1674 g Substanz: 8,4 ccm N (17,5°, 768 mm)

$C_{16}H_{19}O_2N$. Ber. N = 5,45%.
Gef. N = 5,87%.

Über „Glyoxalase", ein Enzym, das Milchsäure aus Methylglyoxal bildet. Antwort an Neuberg.

Von

H. D. Dakin und H. W. Dudley.

(Aus dem Herter Laboratory, New York.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1913.)

In einer kürzlich veröffentlichten Mitteilung[1]) hat Neuberg die Priorität der Entdeckung von Enzymen, die Methylglyoxal in Milchsäure überführen, in Frage gestellt. Wenn unser Schweigen nicht falsch ausgelegt werden könnte, würden wir Neubergs Mitteilung übergehen. Unter keinen Umständen aber werden wir die Blätter einer wissenschaftlichen Zeitschrift dazu benützen, um eine Diskussion von der Art, wie Neuberg dies getan hat, anzufangen.

Die Tatsachen in dieser Angelegenheit sind so klar wie der Tag, und wir bitten unsere Kollegen nur darum, unsere Veröffentlichungen[2]) in dem „Journal of Biological Chemistry" durchzulesen und die Daten sowie unsere Originalangaben mit denen zu vergleichen, die Neuberg uns zugeschoben hat. Chemiker, die sich für diese Frage interessieren, werden selbst Schlüsse ziehen können, und wir können uns getrost auf deren Urteil verlassen.

Der einzige wissenschaftliche Punkt in Neubergs Artikel, der Beachtung verdient, hat mit der Benennung unseres Enzyms zu tun. Neuberg schreibt:

„Sachlich ist noch folgendes zu bemerken. Das Enzym, das die Umwandlung von Methylglyoxal in Milchsäure bewirkt, ähnelt nach meinen Ausführungen in seinen Eigenschaften und in seiner Wirkungsweise der bekannten Aldehydmutase. Durchgreifende Unterschiede von dieser sind nicht offenbar geworden. Es liegt daher bislang keine Veranlassung vor, das Ferment als Vertreter einer neuen Gruppe zu betrachten, wie es Dakin tut. Besonders ist aber der von Dakin gewählte Name „Glyoxalase" höchst unglücklich, da gerade das Glyoxal bisher

[1]) Diese Zeitschr. **55**, 501, 1913.

[2]) Journ. of Biolog. Chem. **14**, 155, 324, 423, 555, 1913; **15**, 127, 463, 1913.

nicht nachweisbar beeinflußt wird. Zweckmäßiger erscheint daher mein Vorschlag (l. c.), das Enzym den Aldehydasen anzureihen und es vorläufig Ketonaldehydmutase zu benennen, da diese Bezeichnung nichts präjudiziert."

Glyoxalase und Aldehydmutase sind aber tatsächlich gänzlich verschiedene Enzyme. Trotz der oberflächlichen Ähnlichkeit ist der Mechanismus der stattfindenden Reaktionen von Grund aus verschieden; ihre Verteilung in dem lebenden Organismus ist durchaus verschieden, und Pankreasextrakt, der die Einwirkung der Glyoxalase mit außerordentlicher Vollständigkeit hemmt[1]), hat keinen derartigen Effekt auf Aldehydmutase. Wir schließen daraus, daß Glyoxalase und Aldehydmutase nichts miteinander zu tun haben.

Ferner haben wir gefunden, daß das Glyoxal selbst unter passenden Bedingungen in der Leber in Glykolsäure übergeführt wird.

Wir ziehen also die Benennung „Glyoxalasen" für diejenige Gruppe von Enzymen vor, die nach unseren Versuchen die Umwandlung verschiedener Glyoxale (Glyoxal, Methylglyoxal, Phenylglyoxal, Isobutylglyoxal, Benzylglyoxal) in die entsprechenden Oxysäuren bewirken, nach der Gleichung:

$$R.CO.CHO + H_2O = R.CH.OH.COOH.$$

Die betreffenden Versuche werden nächstens in dem „Journal of Biological Chemistry" veröffentlicht werden.

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 15, 464, 1913.

Bemerkung zu den voraufgehenden Auslassungen von Dakin und Dudley.

Den vorstehenden Zeilen habe ich Raum gegeben, da sie gegen mich als Autor gerichtet sind; als Redakteur hätte ich jeden anderen Fachgenossen gegen derartige ungeheuerliche Entstellungen in Schutz genommen.

Dakin und Dudley versuchen noch obendrein, die Aufmerksamkeit von dem eigentlichen Tatbestande abzulenken, indem sie allein auf den nebensächlichsten Punkt, die Nomenklaturfrage, eingehen. Daher lehne ich jede weitere Diskussion ab und verweise Wort für Wort auf meine früheren Darlegungen in Band 55, S. 501 dieser Zeitschrift.

C. Neuberg.

Über die Bedeutung der Lipoide für die Entstehung von Potentialunterschieden an der Oberfläche tierischer Organe.

Von

Jacques Loeb und R. Beutner.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research, New York.)

(Eingegangen am 11. Dezember 1913.)

I.

Wir haben in früheren Arbeiten gezeigt, daß die Ruheströme, die sich an der Oberfläche unversehrter pflanzlicher Organe (Blatt der Gummipflanze oder Apfel) beobachten lassen, qualitativ und quantitativ in der gleichen Weise an der Grenzfläche einer wässerigen Lösung und einer wasserunlöslichen Flüssigkeit wie Ölsäure, Lecithin (in einem passenden Lösungsmittel) auftreten[1]). Damit war es wahrscheinlich geworden, daß die Ruheströme dieser pflanzlichen Organe dadurch bedingt sind, daß die letzteren an ihrer Oberfläche mit einer Schicht einer lipoiden Substanz überzogen sind, die Ölsäure (oder eine andere Säure) enthält.

Dieser Nachweis gründete sich auf die von uns gemachte Beobachtung, daß die Potentialdifferenz an der Grenze lebender pflanzlicher Organe und wässeriger Elektrolytlösungen sich mit der Konzentration der letzteren um eine Größe ändert, die nahezu dem Nernstschen Gesetz entspricht. Je verdünnter die Lösung, um so positiver wird sie, was auf Kationenreversibilität hinweist[2]). Genau die gleiche Änderung wurde mit Änderung der Konzentration wässeriger Elektrolytlösungen an

[1]) Loeb und Beutner, diese Zeitschr. **51**, 288, 1913.

[2]) Loeb und Beutner, diese Zeitschr. **41**, 1; **44**, 303, 1912.

der Grenze der Lösungen von Ölsäure oder Lecithin in Guajacol beobachtet.

Beobachtungen an tierischen Organen ließen von diesem Konzentrationseinfluß wenig erkennen. Was davon vorhanden war, reichte aber wenigstens aus, um zu zeigen, daß es sich bei den Ruheströmen tierischer Organe ebenfalls um Kationenreversibilität handelt. Die Frage, ob auch die an tierischen Organen beobachteten Potentialunterschiede darauf zurückzuführen seien, daß die Oberfläche tierischer Organe mit einer Schicht einer wasserunlöslichen Lipoidphase überzogen ist, mußte also durch Berücksichtigung anderer Eigentümlichkeiten dieser Potentialunterschiede entschieden werden. Vor 33 Jahren beobachtete Biedermann[1]), daß wenn eine Stelle der Oberfläche des lebenden Muskels (Sartorius) eines Frosches mit einer Kaliumchloridlösung in Berührung kommt, diese Stelle negativ wird, und daß diese Negativität wieder verschwindet, wenn man später die KCl-Lösung durch eine Chlornatriumlösung ersetzt. Diese Beobachtung läßt sich leicht bestätigen. Sie ist meist so gedeutet worden, als ob das Kaliumsalz die Oberfläche verletzte und so einen Verletzungsstrom erzeuge, während der Ersatz der KCl-Lösung durch NaCl den normalen Zustand des Muskels wieder herstelle. Höber, der auf dem Standpunkt Bernsteins steht, daß die Potentialunterschiede lebender Organe durch eine selektive Ionenpermeabilität der Membranen bedingt seien, nimmt an, daß Kaliumsalze die selektive Ionendurchlässigkeit der „Plasmahaut" des Muskels „ebenso aufheben wie wenn ein Loch in die Membran gemacht würde" (S. 487[2]).

Im Gegensatz zu diesen Anschauungen wollen wir zeigen, daß eine Kaliumchloridlösung den Potentialunterschied an der Grenze einer Lecithinlösung in Guajacol oder von Muskelextrakt in Guajacol quantitativ und qualitativ ebenso beeinflußt wie den lebenden Muskel.

Zur Methodik der Versuche sei auf unsere früheren Arbeiten verwiesen.

---

[1]) Biedermann, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 81, III, 76, 1880.

[2]) Siehe Höber, Physikal. Chem. der Zelle, Leipzig 1911; auch Arch. f. d. ges. Physiol. **106**, 599, 1905.

II.

1. Versuche mit dem lebenden unverletzten Sartorius des Frosches.

Das eine Ende eines Sartorius wurde beständig mit einer $^m/_8$-NaCl-Lösung abgeleitet, das andere (untere) abwechselnd mit einer $^m/_8$-NaCl- und einer $^m/_8$-KCl-Lösung. Das Vorzeichen bezieht sich auf die Ladung des letzteren Endes.

Das untere Ende eintauchend in			Differenz
$^m/_8$-NaCl	+ 0,005 Volt	>	0,011 Volt
$^m/_8$-KCl	— 0,006 „		
$^m/_8$-NaCl	+ 0,008 „	>	0,014 „

In einem zweiten Versuch wurden folgende Zahlen gefunden:

Das untere Ende eintauchend in			Differenz
$^m/_8$-NaCl	+ 0,011 Volt	>	0,030 Volt
$^m/_8$-KCl	— 0,019 „		
$^m/_8$-NaCl	+ 0,011 „	>	0,030 „

Die Kaliumchloridlösung setzt also die elektromotorische Kraft um 30 resp. 14 Millivolt herab. Der letztere Wert dürfte etwas zu niedrig sein. Höber gibt an, daß Overton den Wert 30 bis 50 Millivolt fand.

2. Versuche mit Guajacolextrakt aus getrockneten Froschmuskeln.

Froschmuskeln wurden zerschnitten und sorgfältig über Schwefelsäure getrocknet, zerrieben und mit Guajacol extrahiert. Dieser Extrakt wurde in einen kurzen Schenkel eines U-Rohres gebracht, dessen anderer langer Schenkel mit $^m/_{10}$-NaCl gefüllt war. Der kurze Schenkel wurde abwechselnd in ein Gefäß mit $^m/_{10}$-NaCl und $^m/_{10}$-KCl gebracht. Das Vorzeichen bezieht sich auf die Ladung der letzteren Lösungen.

			Differenz
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,022 Volt	>	0,021 Volt
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,043 „		
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,024 „	>	0,019 „

Ein Guajacolextrakt, aus einer anderen Partie von Froschmuskeln bereitet, gab folgende Werte:

			Differenz
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,052 Volt	>	0,045 Volt.
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,007 „		

Dieser Wert ist höher als der für das erste Präparat gefundene. Beide Werte bewegen sich in der Größenordnung der Differenzen, die im gleichen Falle am lebenden Froschmuskel beobachtet werden.

Eine Kaliumchloridlösung hat also auf das elektrische Verhalten der lipoiden Bestandteile des Froschmuskelextraktes dieselbe Wirkung wie auf das elektrische Verhalten des lebenden Froschmuskels.

Wir prüften nun das Verhalten des reinen Guajacols gegen NaCl und KCl und fanden nur eine Herabsetzung von 0,009 Volt beim Ersatz von $^{m}/_{10}$-NaCl durch $^{m}/_{10}$-KCl. Die oben erwähnte Wirkung rührte also im wesentlichen vom Muskelextrakt her.

In den bisher geschilderten Versuchen war der Guajacolextrakt aus frischen Froschmuskeln hergestellt worden. Wir verglichen damit den Guajacolextrakt von getrocknetem Rindfleisch und erhielten den Kaliumeffekt ebenfalls.

			Differenz
$^{m}/_{10}$-NaCl	+ 0,026 Volt	>	0,018 Volt
$^{m}/_{10}$-KCl	+ 0,008 „		
$^{m}/_{10}$-NaCl	+ 0,026 „	>	0,018 „

3. Versuche mit 10% Lecithin in Guajacol.

Es lag nun nahe festzustellen, ob diese Eigentümlichkeit der Muskelströme sich auch beim Lecithin wiederfindet. Das ist der Fall, wie folgendes Beispiel zeigt.

10% Lecithin in Guajacol.

			Differenz
$^{m}/_{10}$-KCl	0,032 Volt	>	0,021 Volt.
$^{m}/_{10}$-NaCl	0,053 „		

Lecithin benimmt sich also elektrisch wie der lebende Muskel und wie der wasserunlösliche Muskelextrakt.

4. Danach war zu erwarten, daß die Wirkung des Kaliums nicht für den Muskelextrakt spezifisch sein kann. Wir fanden in der Tat, daß ein Guajacolextrakt aus getrockneter Froschhaut, aus getrocknetem Rindergehirn und aus getrockneter Apfelschale sich genau ebenso verhält.

Guajacolextrakt aus getrockneter Froschhaut.

			Differenz
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,010 Volt		
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,029 „	>	0,019 Volt
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,011 „		
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,026 „	>	0,015 „

Guajacolextrakt aus getrocknetem Rindergehirn.

			Differenz
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,022 Volt		
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,042 „	>	0,020 Volt.

Guajacolextrakt aus Apfelschale.

			Differenz
$^m/_{10}$-NaCl	+ 0,026 Volt		
$^m/_{10}$-KCl	+ 0,009 „	>	0,017 Volt.

Es geben also alle fettartigen Körper, die sich mit Guajacol aus tierischen oder pflanzlichen Organen extrahieren lassen, an der Grenze wässeriger Lösungen Potentialdifferenzen, die für gelöste Kaliumsalze niedriger sind als für isotonische Natriumsalze. Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß Galeotti[1]) den negativierenden Einfluß von Kaliumsalzen bei der lebenden Froschhaut beobachtet hat.

III.

Höber fand, daß auch die Anionen die Potentialdifferenz der Muskeln in dem Sinne beeinflussen, daß, wenn ein Ende des Muskels in Lösungen von verschiedenen Salzen desselben Metalls getaucht wird, das eingetauchte Ende immer weniger positiv wird, wenn man von links nach rechts fortschreitet:

CNS, NO_3, J, Br, Cl, SO_4.

Wenn also ein Ende des Muskels konstant in NaCl eintaucht, das andere der Reihe nach in NaCNS oder Na_2SO_4 derselben Konzentration, so wird das letztere Ende positiv sein, wenn es in NaCNS, negativ, wenn es in Na_2SO_4 eintaucht. Die von Höber beobachteten Unterschiede waren aber sehr gering.

Wir stellten eine 10%ige Lecithinlösung in Guajacol her, die nacheinander mit $^m/_{10}$-Lösungen von KCl, KBr, KJ, K_2SO_4, KNO_3 und KSCN in Berührung gebracht wurde. Das Vorzeichen gibt immer die Ladung der wässerigen Phase an. Die folgende Tabelle gibt das Resultat:

[1]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 49, 542, 1904.

$^{m}/_{10}$-K_2SO_4	+ 0,012	Volt
$^{m}/_{10}$-KCl	+ 0,021	„
$^{m}/_{10}$-KBr	+ 0,024	„
$^{m}/_{10}$-KNO_3	+ 0,027	„
$^{m}/_{10}$-KJ	+ 0,029	„
$^{m}/_{10}$-KSCN	+ 0,041	„

Wir erhalten hier dieselbe Ordnung der Anionen, die Höber beobachtete. Die von ihm erhaltenen Werte sind klein und nicht sehr konstant, was natürlich durch die Natur seines Versuchsobjekts bedingt ist. Unsere Werte sind konstant, aber nicht sehr groß. Reines Guajacol zeigt etwas größere Differenzen, und überhaupt zeigen nach Versuchen von Beutner alle wasserunmischbaren Substanzen mehr oder weniger große Differenzen in derselben Reihenfolge der Anionen.

IV.

Theoretische Bemerkungen.

Wir kommen zu dem Resultat, daß die an der Oberfläche tierischer Objekte beobachteten Potentialdifferenzen ebenfalls an der Grenzfläche Lecithin oder Ölsäure mit einer wässerigen Lösung beobachtet werden, und der Schluß liegt nahe, daß die Oberfläche tierischer Organe auch eine Schicht einer lipoiden Phase enthält, die für die bioelektrischen Erscheinungen maßgebend ist.

Damit werden alle die Annahmen über den Ursprung der tierischen Elektrizität hinfällig, die dieselbe auf Absterbeerscheinungen, Verletzung einer Membran oder selektive Ionenpermeabilität zurückführen. Es handelt sich in Wirklichkeit um spurenweise Löslichkeit der in der wässerigen Phase enthaltenen Salze in der lipoiden Phase. Ist in der wässerigen Phase beispielsweise NaCl enthalten, so wird etwas davon in der lipoiden Phase gelöst, bis Gleichgewicht an der Phasengrenze herrscht. Daß KCl in der wässerigen Phase die letztere negativer macht als wenn NaCl in derselben vorhanden ist, läßt sich darauf zurückführen, daß KCl in der Lipoidphase etwas löslicher ist als NaCl.

Damit finden die bioelektrischen Erscheinungen an der Oberfläche normaler tierischer Organe eine einfache Erklärung, die sich wesentlich von der bisher in der Physiologie herr-

schenden Annahme unterscheidet, daß KCl die Permeabilität der Membran verändert, oder den Muskel zum Absterben bringt.

V.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Es war bekannt, daß, wenn man ein Ende eines lebenden unverletzten Froschmuskels in die Lösung eines Kaliumsalzes taucht, an diesem Ende ein negativeres Potential herrscht, als wenn dasselbe Ende in eine gleich konzentrierte Lösung eines Natriumsalzes (mit demselben Anion) getaucht wird. In dieser Arbeit wird gezeigt, daß qualitativ und quantitativ der gleiche Einfluß von Kaliumchlorid beobachtet wird, wenn man den lebenden Muskel durch einen Extrakt desselben in Guajacol, oder durch eine Lecithinlösung in Guajacol ersetzt

2. Höber hat beobachtet, daß am Muskel die Anionen gelöster Salze einen Einfluß auf die Potentialdifferenz haben, derart, daß in der folgenden Reihe die Lösung immer weniger positiv wird, wenn man von links nach rechts fortschreitet:

$$CNS,\ NO_3,\ J,\ Br,\ Cl,\ SO_4.$$

Es wird in dieser Arbeit gezeigt, daß dasselbe relative elektrische Verhalten dieser Anionen an der Grenze einer wässerigen Elektrolytlösung und einer Lecithinlösung in Guajacol beobachtet wird.

3. Damit werden alle Hypothesen über den Ursprung der tierischen Elektrizität hinfällig, die dieselbe auf Absterbeerscheinungen oder auf Membranverletzung oder selektive Ionenpermeabilität beziehen. Es handelt sich vielmehr darum, daß Spuren des Salzes der wässerigen Phase in der Grenzschicht der lipoiden Phase löslich sind. Der negativierende Einfluß der Kaliumsalze dürfte daher rühren, daß dieselben etwas löslicher in der lipoiden Phase sind als die entsprechenden Natriumsalze.

4. Damit sind die elektromotorischen Erscheinungen an der Oberfläche unverletzter tierischer Organe auf dieselbe Struktureigentümlichkeit zurückgeführt, die wir in einer früheren Arbeit als die Ursache derselben Erscheinungen an der Oberfläche pflanzlicher Organe nachgewiesen haben, nämlich die Existenz einer lipoiden Schicht (oder Membran) an der Oberfläche der Organe.

Der Glykogengehalt der Leber bei Ernährung mit Eiweiß und Eiweißabbauprodukten, ein Beitrag zur Frage der Funktion der Leber bei Verarbeitung von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten.

Von

Alfred Tschannen.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1913.)

Einleitung.

Die Entwicklung unserer Kenntnisse der Verdauung und die neuere Eiweißchemie haben es mit sich gebracht, daß in viel umfassenderer und vor allem planmäßiger Weise die Ernährung mit Eiweißabbauprodukten untersucht worden ist. Da man, wie bekannt, vielfach zu der Vorstellung gelangt ist, daß im Darme alles Eiweiß bis zu den Endabbauprodukten abgebaut wird, mußte es natürlich als im Prinzip wesensgleich erscheinen, ob der Bedarf des Organismus an Stickstoff mit Eiweiß oder mit Eiweißabbauprodukten gedeckt würde. Tatsächlich hat eine große Reihe von Arbeiten, namentlich diejenigen von Abderhalden und seiner Mitarbeiter, Tatsachen zutage gefördert, aus denen der Schluß gezogen werden konnte, daß die Ernährung ausschließlich mit Eiweißabbauprodukten die physiologischen Verhältnisse vollkommen nachahmt.

Anderseits darf man nicht gewisse Bedenken beiseite lassen, die gegen die vollständige Identifizierung von Ernährung mit Eiweiß und mit Eiweißabbauprodukten sprechen. Da ist erstens die Tatsache, daß besondere Vorkehrungsmaßregeln getroffen werden müssen, damit der Darm nicht leidet, wenn er mit großen Mengen von Eiweißabbauprodukten überschwemmt wird. Viel wichtiger aber ist, daß man tatsächlich Anhaltspunkte gefunden hat für Unterschiede in der Ernährung mit Eiweiß und Eiweißabbauprodukten. Die Unterschiede betreffen namentlich

das Verhalten der Leber. Es liegt eine Reihe von Erfahrungen vor, die von Asher und seinen Mitarbeitern gewonnen worden sind, aus denen hervorgeht, daß die Leber sich anders verhält, wenn Eiweißabbauprodukte an Stelle von Eiweiß eingeführt werden. Zunächst einmal konnte in den Arbeiten von Kusmine und dann vor allem von Böhm gezeigt werden, daß das histologische Aussehen der Leber anders ist, wenn Zufuhr von Eiweißabbauprodukten anstatt von Eiweiß stattfindet. Namentlich Wittes Pepton ergab ein so charakteristisches Aussehen der Leberzellen, daß unfehlbar aus dem histologischen Bilde die Diagnose auf Ernährung mit Witte-Pepton gestellt werden konnte. Daraus ergab sich, daß Witte-Pepton in irgendeiner Weise die Leber affizieren müsse, und es war naheliegend, denselben Schluß zu ziehen, den Nolf aus ganz anderen, sehr interessanten Experimenten gezogen hatte, daß Pepton als solches in die Leber gelange. Dieser Schluß ist um so beachtenswerter, als im Darm Mittel vorhanden sind, um Pepton, ehe es in die Leber gelangt, weiter abzubauen.

Der von Asher und Nolf postulierte Übertritt von Pepton durch den Darm bis zur Leber wird noch weiter gesichert durch die jüngsten Untersuchungen von Messerli in Ashers Laboratorium, der fand, daß Pepton mit derselben Geschwindigkeit resorbiert wird, wie die tiefen Abbauprodukte im Erepton. Ferner hat Pletnew gezeigt, daß die Zuckerassimilationsgrenze von Hunden wesentlich herabgesetzt wurde, wenn an Stelle von Eiweiß Eiweißabbauprodukte gefüttert wurden. Wiederum erwies sich Wittes Pepton als diejenige Substanz, die am wenigsten indifferent war. Pletnew zog aus diesen Beobachtungen den Schluß, daß die Zuckerassimilationsgrenze bei reichlicher Zufuhr von Eiweißabbauprodukten herabgesetzt würde, weil die Leber bei der Verarbeitung der Eiweißabbauprodukte eine intensivere Arbeit zu leisten habe und dadurch entweder die Glykogenbildung oder die Glykogenaufstapelung leide. Für einen abnormen Reizzustand der Leber in den Pletnewschen Versuchen sprach vor allem auch die Tatsache, daß im Harn Gallenfarbstoff auftrat.

Auch A. Loeb fand Tatsachen, aus denen hervorging, daß bei Ernährung mit Pepton die Leber in ganz besonders intensiver Weise tätig war. Beobachtung der Gallenabsonderung

zeigte nämlich, daß bei Fütterung mit Pepton der Gallenfluß in längeren Perioden bei weitem am stärksten war.

Die soeben berichteten Erfahrungen drängen zu der Ansicht, daß die Leber anders zu funktionieren habe, wenn die Ernährung ausschließlich mit Eiweißabbauprodukten anstatt mit Eiweiß stattfindet. Der Endeffekt könnte der gleiche sein, aber im Organismus wäre der gleiche Endeffekt in den beiden Fällen mit verschiedenen Mitteln erreicht. Es schien nun geboten, fußend auf der Auffassung, daß die Leber bei der Verarbeitung von Eiweißabbauprodukten einen besonderen Anteil nehme, die Frage in noch direkterer Weise, als in den vorhergehenden Arbeiten möglich war, zu erforschen. Deshalb folgte ich der Anregung von Professor Asher, um unter seiner Beihilfe zu untersuchen, wie sich der Glykogenbestand der Leber verhielte, wenn man Tiere, die mit Eiweiß, und Tiere, die mit Eiweißabbauprodukten gefüttert wurden, verglich.

Bei der Untersuchung des Glykogengehaltes nach Fütterung mit Eiweiß und mit Eiweißabbauprodukten wird ein Gebiet betreten, auf dem schon reiche Arbeit getan worden ist. Denn der Glykogengehalt der Leber wurde namentlich mit Rücksicht auf das Problem der Zuckerbildung aus Eiweiß untersucht. Prinzipiell hatte es sich dabei um folgende beiden Fragen gehandelt: Einmal die Frage, ob Eiweiß, je nachdem es eine Kohlenhydratgruppe im Molekül enthielte oder nicht, zur Glykogenbildung befähigt sei. Das andere Mal handelte es sich um die Frage, ob gewisse Aminosäuren durch Verarbeitung in der Leber zu Glykogen umgewandelt werden. Es kann wohl keinem Zweifel unterliegen, daß sowohl beim pankreasdiabetischen Tiere wie auch beim phlorizindiabetischen Tiere eine Reihe von Aminosäuren in Glykogen übergehen. Auch in der künstlich durchströmten Leber ist die Bildung von Glykogen nach Zufuhr von Aminosäuren nachgewiesen worden. Ich will an dieser Stelle nur an die einschlägigen Arbeiten von Embden und Salomon, von Neuberg und Langstein, von Glaessner und Pick sowie von Lusk erinnern. Andererseits fanden Baer und Blum das merkwürdige Resultat, daß Glutarsäure im Gegensatz zu allen bis jetzt untersuchten Aminosäuren bei Diabetes die Zuckerausscheidung vermindert.

Methodik.

Zu den vorliegenden Untersuchungen dienten als Versuchstiere weiße Ratten, denen die zu untersuchenden Substanzen noch relativ leicht mit dem Futter oder an Stelle gewöhnlicher Nahrung beizubringen waren. Wegen der Kleinheit der Lebern und der geringen Glykogenmengen wurden jeweilen drei Tiere zu einem Versuch verwendet. Mit Ausnahme der beiden ersten Versuche setzte ich immer zwei Gruppen von Ratten gleichzeitig ein. Eine davon erhielt die eigentliche Versuchsnahrung, die andere bekam eine entsprechende Kontrollfütterung. Dabei wurden beide Serien nebeneinander unter genau denselben äußeren Bedingungen gehalten. Bis zum Beginn des Versuches bekamen die Ratten ihre gewöhnliche Kost, hauptsächlich Hundekuchen. Ich habe davon abgesehen, durch vorherige Manipulationen, wie sie vielfach angewandt worden sind, die Ratten vorher glykogenfrei zu machen. Wirklich mit Sicherheit Glykogenfreiheit zu erzielen, ist selbst bei Anwendung von Kontrolltieren eine immer noch ziemlich unsichere Sache. Ich glaubte mich aber zu der Annahme berechtigt, daß die Ratten unmittelbar vor dem Versuchsbeginn annähernd gleich reich an Glykogen waren, da sie längere Zeit unter ganz gleichen Bedingungen gehalten worden waren, das nämliche Alter hatten und in den meisten Fällen sogar vom selben Wurfe stammten. Wären wirklich bedeutende Differenzen im Glykogengehalt der Tiere zu Beginn der Versuche vorhanden gewesen, dann hätten mit größter Wahrscheinlichkeit einzelne gleichartige Versuche widersprechende Resultate ergeben müssen, was aber tatsächlich nie der Fall war. Von sehr bedeutendem Einfluß waren die äußeren Bedingungen, unter denen die Tiere gehalten wurden. Eine Hauptrolle spielte ohne Zweifel die Temperatur. So ergab sich bei den beiden ersten Versuchen, wobei die Ratten in Glaskästen in einem ungeheizten Raum gehalten wurden, ein auffallend geringer Glykogengehalt der Lebern. Es wurden daher bei den folgenden Versuchen die Tiere im geheizten Raum und in gut gelüfteten Drahtkäfigen gehalten. Doch mußten sich auch so noch bedeutende Unterschiede in den äußeren Bedingungen für die zeitlich aneinanderliegenden Versuche ergeben. Namentlich war hierbei auch die Tempe-

ratur recht ungleich. So zeigten Versuche, die in bezug auf die Fütterung sich entsprachen, aber zeitlich weit auseinanderlagen, bedeutende Schwankungen in den gefundenen Glykogenmengen. Hingegen war die Übereinstimmung eine recht gute bei Vergleichung mit den entsprechenden, gleichzeitigen Kontrollversuchen. Ich halte es daher für richtiger, das Hauptgewicht jeweilen auf das Ergebnis zweier gleichzeitiger Versuche zu legen, als auf den Vergleich von Experimenten, die zu verschiedener Zeit und sicherlich unter ungleichen äußeren Bedingungen stattfanden.

Nicht geringe Schwierigkeiten bereitete es oft, den Tieren die ungewohnte und oft bittere oder scharfe Nahrung so zuzubereiten, daß sie gern genommen wurde. Mein Bestreben ging dahin, diesen Zweck mit möglichst geringen Zutaten zu erreichen; denn diese konnten natürlich nicht ohne Einfluß auf das Resultat sein. Die Ratten zeigten dabei recht verschiedenen Geschmack. Eine Nahrung, die einer Serie nur schwer schmackhaft zu machen war, wurde von einer anderen zuweilen ohne viele Zutaten gern gefressen. Nachdem sich gleich bei den ersten Versuchen ergab, daß Peptonfütterung den Glykogengehalt auf ein Minimum herabdrückt, verwendete ich bei den letzten Versuchen dieses Ergebnis, um durch 1 bis 2tägige Peptondarreichung vor Beginn des eigentlichen Versuches die Tiere sehr glykogenarm zu machen.

Die Versuchsfütterung dauerte jeweilen 4 bis 5 Tage, und zwar wurde jeden Tag nur einmal Futter gegeben, in der Regel am Nachmittag oder gegen Abend. Die Ratten nahmen die Nahrung mit Vorliebe während der Nacht zu sich, tagsüber ließen sie dieselbe oft unberührt. Neben der Nahrung erhielten sie selbstverständlich immer frisches Wasser. Die Futtermenge wurde so gut als möglich dem Nahrungsbedürfnis der Tiere angepaßt derart, daß sie während der Dauer des Versuches nicht Hunger litten, andererseits aber auch nicht größere Futtermengen übrig ließen. Letzteres ließ sich freilich nicht immer ganz vermeiden. In diesem Falle wurde dann der übrig gelassene Futterrest am nächsten Tage mit der neuen Nahrung wieder gegeben. Die Futtermenge zweier Parallelversuche wurde so bemessen, daß die zugeführte Gesamtstickstoffmenge für beide Serien annähernd gleich war.

Zur quantitativen Gewinnung des Glykogens aus der Leber verfuhr ich in Anpassung an die Pflügerschen Vorschriften in folgender Weise:

Durch einen Schlag auf den Kopf und Durchtrennung der Wirbelsäule mit einer starken Schere wurden die Tiere rasch getötet. Das Abdomen wurde eröffnet, die Leber herausgenommen, grob zerhackt und rasch gewogen. Dann wurde sie sofort in ein kleines Erlenmeyer-Kölbchen mit ungefähr der gleichen Menge 60%iger Kalilauge geworfen, die bereits auf dem Wasserbade kochte. Diese Arbeit nahm für drei Ratten etwa 15 Minuten in Anspruch. Die Lebern dreier zusammengehöriger Tiere wurden gemeinschaftlich gewogen und gekocht. Während des dreistündigen Kochens auf dem Wasserbade wurden die Kölbchen 2mal herausgenommen und ihr Inhalt gut umgeschüttelt. Leber und Lauge bildeten jetzt eine gleichmäßige, rotbraune, sirupartige Masse, in der alles Eiweiß durch die kochende Kalilauge zerstört wurde, während das Glykogen keine Veränderung erlitt.

Nachdem die Lösung so 3 Stunden gekocht hatte, wurde sie in ein Becherglas gegossen, das Kölbchen spülte ich mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers aus und brachte das Spülwasser ebenfalls ins Becherglas. Durch Versetzen mit dem doppelten Volumen Alkohol von 95% wurde das Glykogen aus der Lösung gefällt, darauf zum Absetzen einige Zeit, meist über Nacht, stehen gelassen. Die Flüssigkeit über dem Niederschlag wurde darauf vorsichtig abgegossen und filtriert. Der zurückbleibende Niederschlag wurde wiederholt gewaschen, und zwar: 3mal mit 60%igem Alkohol, 2mal mit 95%igem, 1mal mit absolutem (99½%), 3mal mit Äther und zum Schluß nochmals mit absolutem Alkohol. Auch diese Waschflüssigkeiten wurden filtriert, so daß jetzt ein Teil des Glykogenniederschlages sich auf dem Filter befand. Alles Glykogen wurde darauf in heißem Wasser gelöst und in einen Meßkolben von passender Größe gebracht, und zwar mußte darauf geachtet werden, daß vom Becherglas und Filter jede Spur von Glykogen abgespült und in den Kolben gebracht wurde. Der Meßkolben durfte nicht ganz bis zur Marke gefüllt sein, weil man später noch eine gewisse Menge Salzsäure und Kalilauge zusetzen mußte. Die so gewonnene Glykogenlösung, die stets alkalisch reagierte, wurde mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure genau neutralisiert. Auf je 100 ccm Kolbeninhalt wurden hierauf je 5 ccm der nämlichen konzentrierten Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 zugesetzt, so daß die Glykogenlösung annähernd 2,2 Volumenprozente Chlorwasserstoffsäure enthielt. Indem man diese Lösung 3 Stunden lang auf dem Wasserbade kochte, wurde alles Glykogen zu Traubenzucker invertiert. Nun wurde die Lösung auf Zimmertemperatur abgekühlt, durch tropfenweises Zusetzen von 60%iger Kalilauge wurde die Salzsäure neutralisiert und der Kolben bis zur Marke mit destilliertem Wasser gefüllt. An Stelle der opalescierenden Glykogenlösung hatte man jetzt eine schön klare Zuckerlösung. Nachdem diese filtriert war, konnte ihr Zuckergehalt quantitativ bestimmt werden.

Für die Zuckerbestimmung wählte ich die titrimetrische Methode nach Bertrand. Zur Ausführung derselben bereitete ich mir folgende vier Normallösungen:

I. Lösung:	Reines krystallinisches Kupfersulfat .	40 g
	Dest. Wasser zu	1 l
II. Lösung:	Reines Seignettesalz	200 g
	Natriumhydroxyd in Stangen . . .	150 g
	Dest. Wasser zu	1 l
III. Lösung:	Ferrisulfat	40 g
	Konzentr. Schwefelsäure	200 ccm
	Dest. Wasser zu	1 l
IV. Lösung:	Kaliumpermanganat	5 g
	Dest. Wasser zu	1 l.

Kupfersulfat und Seignettesalz wurden zuerst durch 2maliges Umkrystallisieren gereinigt; Ferrisulfat sowie Ammoniumoxalat, dessen Verwendung weiter unten erwähnt werden soll, wurden von Kahlbaum bezogen. Die übrigen Chemikalien lieferte die Firma Haaf in Bern.

Die Zuckerbestimmung nach Bertrand gestaltet sich folgendermaßen:

Von der filtrierten Zuckerlösung, deren Zuckergehalt bestimmt werden soll, werden 20 ccm in ein nicht zu kleines Erlenmeyer-Kölbchen gebracht, dazu je 20 ccm der Kupfersulfat- und Seignettesalzlösung. Die Mischung wird über einer mäßig starken Flamme erhitzt und vom Momente an, da die ersten Gasblasen aufsteigen, während 3 Minuten vorsichtig gekocht. Dabei wird durch den vorhandenen Zucker eine bestimmte Menge Kupfersulfat zu rotem Kupferoxydul reduziert. Es ist darauf zu achten, daß die zu untersuchende Zuckerlösung nicht zu konzentriert ist und auf keinen Fall mehr als 100 mg Zucker auf 20 ccm enthält, da sonst alles Kupfersulfat reduziert wird und ein Teil des Zuckers seine reduzierende Wirkung nicht entfalten kann. Die Lösung muß also nach dem Kochen noch überschüssiges Kupfersulfat enthalten d. h. sie muß noch blau sein.

Sobald der rote Niederschlag von Kupferoxydul sich gesetzt hat, was nach wenigen Minuten der Fall ist, wird die Flüssigkeit durch ein Asbestfilterröhrchen abfiltriert. Der Oxydulniederschlag wird mit destilliertem Wasser gut gewaschen, und auch das Waschwasser wird durch das Filterröhrchen durchgesaugt. Dabei soll möglichst wenig von dem Niederschlag auf das Filter kommen, was man durch ganz vorsichtiges Abgießen der Flüssigkeit erreicht. Durch Zusatz von 20 ccm der Ferrisulfatlösung wird der rote Niederschlag im Erlenmeyer-Kolben gelöst. Aus der Saugflasche wird die abfiltrierte blaue Flüssigkeit weggegossen, die Flasche wird reingespült und das Filterröhrchen wieder aufgesetzt. Unterdessen hat sich das Kupferoxydul in der Ferrisulfatlösung gelöst, wobei es einen Teil des Ferrisulfates zu Ferrosulfat reduziert hat. Die Lösung zeigt jetzt infolgedessen eine schön grüne Färbung. Sie wird langsam durch das Filterröhrchen gesaugt, wobei auch der Oxydul-

niederschlag, der sich in diesem befindet, in Lösung geht. Bleibt noch ein Teil des Niederschlages ungelöst auf dem Filter zurück, so gießt man noch einige Kubikzentimeter der Ferrisulfatlösung nach. Aus der Saugflasche bringt man die Lösung in ein Becherglas, und aus dem Erlenmeyer-Kolben, aus der Saugflasche und vom Filterröhrchen wird jede Spur derselben ins nämliche Glas gespült.

Die Menge des Ferrosulfates, welches das Kupferoxydul aus dem Ferrisulfat durch Reduktion gebildet hat, bestimmen wir durch Titration mit der Kaliumpermanganatlösung. Aus dem gefundenen Ferrosulfat läßt sich dann rückwärts das Kupferoxydul, aus diesem der Zucker und weiter das Glykogen quantitativ bestimmen. Wir haben nur noch den Titer der Kaliumpermanganatlösung festzustellen. Das geschieht in der Weise, daß wir genau 0,25 g reinstes Ammoniumoxalat mit 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure in 100 ccm destilliertem Wasser lösen, auf 70 bis 80° erwärmen und mit der Permanganatlösung titrieren, indem wir so lange tropfenweise Kaliumpermanganatlösung zufließen lassen, bis Rosafärbung eintritt. Der Umschlag der Farbe erfolgt in dem Moment, in dem das Kaliumpermanganat nicht mehr reduziert wird, oder, was dasselbe bedeutet, wenn alles Ammoniumoxalat oxydiert worden ist. Nun ist aber ein Molekül Ammoniumoxalat in seiner reduzierenden Wirkung äquivalent zwei Molekülen Ferrosulfat oder einem Molekül Kupferoxydul, oder ein Molekül Ammoniumoxalat ist äquivalent 2 Fe oder 2 Cu.

Multiplizieren wir die Menge des verwendeten Ammoniumoxalat (0,25 g) mit $\frac{63{,}6 \cdot 2}{142{,}1} = 0{,}8951$, so erhalten wir die Kupfermenge, die der zur Titration verwendeten Permanganatlösung entspricht. Aus der durch Titration gefundenen Kupfermenge läßt sich an Hand einer von Bertrand ausgearbeiteten Tabelle die entsprechende Zuckermenge ablesen. Da ferner 1 g Zucker 0,927 g Glykogen entspricht, so haben wir das gefundene Zuckerquantum noch mit dieser Zahl zu multiplizieren, und die Gesamtglykogenmenge der Lebern ist bestimmt.

Noch ist zu bemerken, daß ich Filter und Lösungen nahezu jede Woche durch Analyse von abgewogenen Zucker- und Glykogenmengen prüfte. Ferner überzeugte ich mich von der Zuverlässigkeit der ganzen Bestimmungsmethode durch probeweise Glykogenbestimmung an einer Kaninchenleber, die ich in zwei Hälften teilte und jede Hälfte für sich analysierte, dann auch so, daß ich ein Quantum reines Glykogen abwog, dasselbe dem ganzen Verfahren unterzog wie die Lebern und bei der Titration ein sehr gut stimmendes Resultat erhielt.

Versuche.

Wie bereits gesagt, untersuchte ich in erster Linie die Wirkung, die das Pepton auf die Leber ausübt. Es standen mir zwei verschiedene Peptonpräparate zur Verfügung, weißes

Witte-Pepton und gelbes Fleischpepton von der Firma Merck in Darmstadt. Letzteres erwies sich als ungeeignet für diese Versuche, weil die Ratten es absolut nicht fressen wollten. So wurde in allen Fällen ausschließlich Witte-Pepton verwendet, das im wesentlichen ein Gemisch von Albumosen darstellt.

Die beiden ersten Versuche geben kein zutreffendes Bild der Verhältnisse, weil die Tiere aus äußeren Gründen während dieser beiden ersten Versuche offenbar in einem zu kühlen Raume gehalten wurden. Dies ergab sich daraus, daß auch die Kontrolltiere einen sehr geringen Glykogengehalt zeigten. Das Wesentliche aber kommt trotz der ungünstigen Verhältnisse zum Ausdruck.

Ich gebe zunächst die Übersichtstabelle der beiden ersten Versuche:

Versuchsreihe 1.

4 Ratten wurden vom 28. bis 31. X. mit ca. 50 g rohem Fleisch täglich gefüttert. Am 1. XI. wurden die Tiere getötet:

Gewicht der Lebern . = 15,12 g
Glykogenmenge . . . = 23,97 mg

Glykogen pro 1 g Leber = 1,53 mg = 1,53 ‰.

Versuchsreihe 2.

3 Ratten wurden vom 5. bis zum 7. XI. mit ca. 15 g Witte-Pepton täglich gefüttert. Dem Pepton wurde eine kleine Menge zerriebenes Brot zugesetzt, damit es von den Tieren lieber gefressen wurde. Am 8. XI. wurden die Ratten getötet:

Gewicht der Lebern . = 14,63 g
Glykogenmenge . . . = 4,40 mg

Glykogen pro 1 g Leber = 0,30 mg = 0,30 ‰.

Wegen der überaus geringen Glykogenmenge mußte die gewonnene Zuckerlösung vor der Titration durch Einengen auf dem Wasserbade konzentrierter gemacht werden. Trotzdem war die Konzentration immer noch geringer, als sie für die Bertrandsche Bestimmungsmethode sein sollte.

Trotz der bei beiden Versuchen relativ sehr niedrigen Werte für den Glykogengehalt zeigt sich doch schon hier eine deutliche Verminderung desselben bei Peptonfütterung, indem hier eigentlich nur Spuren von Glykogen vorhanden sind.

Versuchsreihe 3.

Die Versuchsfütterung an 2 Gruppen von je 3 Ratten dauerte vom 14. bis zum 17. XI.

	Gruppe 3a (Fleischfütterung)	Gruppe 3b (Peptonfütterung)
14. XI.	ca. 70 g rohes Fleisch	18 g Pepton, 3 g Brot
15. XI.	70 g „ „	21 g „ 2 g „
16. XI.	70 g „ „	21 g „ 2 g „
17. XI.	70 g „ „	21 g „ 2 g „

In dieser Versuchsreihe zeigte sich eine Erscheinung bei den mit Pepton gefütterten Tieren, die schon in der vorhergehenden Reihe zu konstatieren war. Es trat nämlich vom zweiten Tage an eine tief grüne Färbung des Harnes auf. Dieselbe beruhte, wie durch die chemische Reaktion gesichert wurde, auf der Gegenwart von Gallenfarbstoff. Meine Beobachtungen decken sich mit denjenigen von Pletnew am Hunde, wo bei Peptonfütterung gleichfalls Gallenfarbstoff im Harn erschien. Pletnew benutzte diese auffallende Erscheinung, um daraus den Schluß zu ziehen, daß bei reichlicher Peptonfütterung ein Reizzustand in der Leber herbeigeführt würde, und sah in seiner Beobachtung eine Bestätigung des von Böhm auf Grund des charakteristischen Aussehens der „Peptonleber" im histologischen Bilde gezogenen Schlusses. Dadurch, daß ich jetzt an dem von Böhm benutzten Versuchstier, der Ratte, die gleiche Beobachtung wie Pletnew am Hunde habe machen können, wird ein Zusammenhang hergestellt, dem eine weitgehende Beweiskraft innewohnt.

Am 18. November wurden die Ratten getötet die Lebern wogen:
Gruppe 3a: 17,93 g, Gruppe 3b: 15,85 g.

Die Analyse ergab folgenden Glykogengehalt:

3a (Fleischfütterung): 128,48 mg auf 17,93 g Leber.
Auf 1 g Leber = 7,17 mg Glykogen = 0,717%.

3b (Peptonfütterung): 64,89 mg auf 15,85 g Leber.
Auf 1 g Leber = 4,15 mg Glykogen = 0,415%.

Mehrgehalt der Fleischlebern an Glykogen = 3,02 mg pro 1 g Leber.

Trotz einer kleinen Kohlenhydratzugabe in Form von Brot, die zur Geschmacksverbesserung des Peptons nötig erschien, und obschon die Peptonmenge im Verhältnis zum Fleisch sehr reichlich bemessen war, zeigen die Peptontiere doch nur

einen Glykogengehalt, der um 42% geringer ist als derjenige der Fleischtiere. Es war noch die Vermutung möglich, daß dieser Unterschied durch reichlichen Kohlenhydratgehalt des verwendeten Fleisches — ich fütterte die Ratten in allen Versuchen mit Rindfleisch — verursacht sein könnte. Um diese Fehlerquelle auszuschließen, wurde beim nächsten Versuch das Fleisch zuerst gründlich ausgekocht unter zweimaligem Abgießen des Kochwassers. Der Versuch ergab folgendes Resultat:

Versuchsreihe 4.

(Zwei Serien zu je 3 Ratten.)

Gruppe 4a.		Gruppe 4b.		
21. IX.,	100 g gekochtes Fleisch,	25 g	Pepton,	4 g Brot,
22. IX.,	80 g „ „	18 g	„	2 g „
23. IX.,	80 g „ „	18 g	„	1 g „
24. IX.,	80 g „ „	18 g	„	1 g „
25. IX.,	100 g „ „	20 g	„	kein Brot.

Tötung der Ratten am 26. XI.; Gewicht der Lebern:
4a (Fleischlebern): 18,70 g, 4b (Peptonlebern): 14,72 g.
4a ergab eine Glykogenmenge von 66,69 mg.
Auf 1 g Leber 3,57 mg = 0,357% Glykogen..
4b ergab auf 14,72 g Leber 3,85 mg Glykogen.
Auf 1 g Leber 0,26 g = 0,026% Glykogen.
Mehrgehalt der Fleischlebern an Glykogen pro 1 g Leber = 3,31 mg.

Dadurch, daß die Kontrolltiere nur kohlenhydratfreies Fleisch erhielten, ist in der Tat erreicht worden, daß ihr Glykogengehalt ein recht niedriger wird. Doch ist wiederum ein auffälliger Unterschied zu konstatieren, indem die Lebern der Peptontiere nur Spuren von Glykogen aufweisen. Die Differenz beträgt 92%.

Das zu meinen Versuchen benutzte Wittesche Pepton ist zwar ein Präparat, von dem, wie ausdrücklich betont werden muß, durch Versuche von Politzer und insbesondere von Ellinger bekannt ist, daß es den Stickstoff des Eiweißes vollständig zu ersetzen vermag. Immerhin braucht deshalb Fleisch und Witte-Pepton nicht als vollständig gleichwertig angesehen zu werden. Es wurde zwar vom 4. Versuche an das Fleisch durch Auskochen kohlenhydratarm gemacht und dadurch der Unterschied zwischen Fleisch und Pepton verringert. Aber der Unterschied ist dadurch nicht vollständig aufgehoben. Derselbe wirkt nach zwei Richtungen. Einmal ist bei Fleischnahrung,

selbst nach dem Auskochen, ein gewisser Teil des dynamogenen Bedürfnisses durch N-freie Stoffe gedeckt. Zweitens wirkt reine Peptonernährung reizend auf den Darm. Der letztgenannte Punkt muß in erster Linie berücksichtigt werden. Denn es könnte sowohl der Glykogenschwund in der Leber wie das Auftreten von Gallenfarbstoff im Harn nicht auf einem besonderen, durch Peptonübertritt in die Leber bedingten Vorgang beruhen, sondern Folge eines Darmkatarrhes sein.

Deshalb wurden im folgenden Versuch neben Fleisch resp. Pepton noch reichlich Kohlenhydrate gefüttert:

Versuchsreihe 5.

Gruppe 5a.	Gruppe 5b.
28. XI., 50 g rohes Fleisch, 12 g Zucker, 6 g Brot, 6 g Mehl.	15 g Pepton, 12 g Zucker. 6 g Brot, 6 g Mehl.

Ebenso war die Fütterung am 29. und 30. XI., am 1. und 2. XII. Wie bei allen Peptonfütterungen zeigte der Harn vom 2. Tage an Grünfärbung durch Gallenfarbstoff.

Am 3. XII. wurden die Ratten getötet. Gewicht der Lebern:
5a (Fleisch): 22,71 g, 5b (Pepton): 22,06 g.
Glykogengehalt der Lebern 5a = 1,08656 g.
Auf 1 g Leber = 47,84 mg = 4,784%.
Glykogengehalt der Lebern 5b = 0,82668 g.
Auf 1 g Leber = 37,47 mg = 3,747%.
Mehrgehalt der Fleischlebern = 10,37 mg Glykogen pro 1 g Leber.

Sowohl die mit Fleisch, wie auch die mit Pepton gefütterten Ratten zeigen deutlich den Einfluß der Kohlenhydratzulage in der Nahrung, indem bei beiden eine merkliche Glykogenbildung eingetreten ist. Trotzdem ist der Einfluß des Peptons noch sehr deutlich. Es hemmt die Glykogenbildung, was sich dadurch ausdrückt, daß der Glykogengehalt der Peptonlebern um 22% geringer ist. Auch der Übertritt von Gallenfarbstoff in den Harn findet noch statt.

Das Ergebnis dieses Versuches spricht dafür, daß Pepton die Glykogenbildung nicht etwa durch den Darmreiz, der hier aufgehoben war, sondern durch einen besonderen Vorgang in der Leber hemmt. Um so mehr ist dieser Schluß berechtigt, als ich sogar in den Versuchen ohne Zulage von Kohlenhydraten weder Durchfall noch andere Zeichen von Unwohlsein bei den Ratten beobachten konnte.

Ein weiterer Versuch, bei dem die Wirkung des Peptons mit derjenigen des Caseins kombiniert wurde, soll bei den Untersuchungen über Casein erwähnt werden.

Das Gesamtergebnis aller vorstehenden Versuche ist, daß Pepton, in größeren Mengen gegeben, die Glykogenbildung in der Leber hemmt. Wenn ausschließlich Pepton gegeben wird, kann die Hemmung eine vollständige sein. Pepton erweist sich dann als ein Mittel, die Leber glykogenfrei zu machen, und es wirkt so zuverlässig, daß es als methodisches Mittel benutzt werden kann, um die Leber behufs anderweitiger Untersuchungen glykogenfrei zu machen. Ich habe es bei meinen nachfolgenden Versuchen zu diesem Zwecke benutzt. Man gibt Pepton so lange, bis Gallenfarbstoff im Harn auftritt. Einen Tag nach dem Aussetzen des Peptons verschwindet der Gallenfarbstoff wieder aus dem Harn und es bleibt keine Schädigung des Tieres zurück. Die eingreifenden Prozeduren, die in der Literatur beschrieben werden, um Tiere glykogenfrei zu machen, werden durch die Anwendung von Pepton überflüssig.

Das Bemerkenswerteste ist, daß Witte-Pepton fast alle N-haltigen Bestandteile des Eiweißes enthält und im Magendarmkanal durch Spaltung eine ganze Reihe von Aminosäuren liefert, die experimentell als Bildner von Zucker nachgewiesen worden sind und trotzdem nicht allein nicht imstande ist, als Glykogenbildner zu wirken, sondern direkt die Glykogenbildung hemmt. Da Pepton ein chemisch nicht hinreichend definiertes Gemisch ist, läßt sich auch keine chemische Erklärung dieses Verhaltens geben. Hingegen liegen genügend physiologische Anhaltspunkte vor, die zeigen, daß die Hemmung der Glykogenbildung durch Pepton im Zusammenhang mit anderen Tatsachen steht, Tatsachen, die schon erwähnt wurden. Kusmine und Böhm hatten aus ihren histologischen Tatsachen einen vermehrten Reizzustand der Leber erschlossen und die jetzt von mir bestätigte Ansicht ausgesprochen, daß Pepton Glykogenverminderung in der Leber mache. A. Loeb hatte aus der Art der Gallenabsonderung den Beweis erhöhter Lebertätigkeit bringen können, Pletnew sah unter dem Einfluß von Pepton die Zuckerassimilationsgrenze sinken. Meine Beobachtungen liefern den noch fehlenden strengen Beweis, daß die von Pletnew gefundene Tatsache auf der Unfähigkeit der Leber beruht, den Zucker

als Glykogen aufzuspeichern. Es scheint demnach eine gewisse Analogie in dem Verhalten der Leber bei Zufuhr von übermäßig viel Fett und übermäßig viel Pepton zu bestehen, indem in beiden Fällen das Glykogen verdrängt wird. Durch die Arbeiten von Nolf und von Messerli steht zwar fest, daß Pepton als solches resorbiert wird. Die Hemmung der Glykogenbildung wird aber unter normalen Bedingungen keine Rolle spielen, weil erstens Pepton nur in kleinen Mengen und abgestuft zur Resorption gelangt, und weil zweitens meist Eiweiß vermengt mit anderen Nahrungsstoffen, vor allem Kohlenhydraten, aufgenommen wird.

Nicht ohne Interesse ist weiter die Tatsache, daß auch Fleisch sich für Ratten nur als ein mäßiger Glykogenbildner erweist. Deshalb schien es angebracht, andere Eiweißkörper auf ihr Glykogenbildungsvermögen zu prüfen, weniger um ihrer selbst willen, denn darüber liegt schon eine reiche Literatur vor, als um den Vergleich zwischen dem Eiweißkörper selbst und der Gesamtheit seiner Spaltungsprodukte durchzuführen. Zu diesem Vergleich empfahl sich vor allem Casein, weil die Befähigung desselben zur Glykogenbildung durch Arbeiten der Zuntzschen Schule bewiesen ist.

Versuchsreihe 6.

Gruppe 6a.	Gruppe 6b.
5. XII., 10 g Casein, 2 g Brot.	12 g hydrolys. Casein, 2 g Brot, eine Spur Fett.
6. XII., 15 g Casein, 2 g Brot.	15 g hydrolys. Casein, 4 g Brot, etwas Fett.
7. XII., 18 g Casein, 2 g Brot.	15 g hydrolys. Casein, 4 g Brot, etwas Fett.
8. XII., 15 g Casein, 2 g Brot.	15 g hydrolys. Casein, 4 g Brot, etwas Fett.
9. XII., 12 g Casein, 2 g Brot.	14 g hydrolys. Casein, 4 g Brot, etwas Fett.

Das hydrolysierte Casein bildet, mit einer kleinen Menge Wasser angerührt, eine zähe, klebrige Masse. Eine Zutat von etwas zerriebenem Brot und einer Spur Fett erwies sich als sehr geeignet, um diese Eigenschaften zum Teil aufzuheben und gleichzeitig den scharfen Geschmack zu mildern. Die Fettzugabe war übrigens so gering, daß davon keine Hemmung der Glykogenbildung zu erwarten war.

Das reine Casein dagegen besitzt einen recht faden Geschmack, weshalb ich es für gut erachtete, es mit einer Prise Kochsalz und etwas Bratensauce zu würzen; so präpariert wurde es von den Tieren sehr gern aufgenommen.

Am 10. XII. wurden die Ratten getötet; Gewicht der Lebern:
6a (Casein): 13,52 g, 6b (hydrolys. Casein): 11,45 g.

Der Gesamtglykogengehalt war bei 6a 181,55 mg.
Auf 1 g Leber 13,52 mg = 1,352 % Glykogen.
Bei 6b war die gesamte Glykogenmenge 95,05 mg.
Auf 1 g Leber 8,30 mg = 0,830 % Glykogen.

Der Unterschied im Glykogengehalt beträgt 5,22 mg zugunsten der Caseinlebern.

Eine noch bedeutend größere Differenz ergab sich in einem späteren Versuch, wo sowohl das Casein wie auch das hydrolysierte Casein ohne jede Zutat gegeben werden konnten. Zuerst wurden am 30. und 31. I. 1913 pro Tier 5 g Pepton täglich gefüttert, um die Lebern glykogenarm zu machen. Schon am zweiten Tag erschien der Harn in charakteristischer Weise grün, und es begann am 1. II. die eigentliche Versuchsfütterung, die wie gewöhnlich 5 Tage dauerte.

Versuchsreihe 10.

Serie 10a.	Serie 10b.
1. II. 15 g Casein.	18 g hydrolys. Casein.
2. II. 15 g „	18 g „ „
3. II. 14 g „	16 g „ „
4. II. 15 g „	17 g „ „
5. II. 15 g „	16 g „ „

Bereits am 2. II. war bei beiden Gruppen der Harn wieder von normaler Farbe.

Am 6. II. wurden die Ratten getötet. Es betrug das Gewicht der Lebern:
10a (Casein): 12,50 g, 10b (hydrolys. Casein): 12,50 g.
Gesamtglykogen der Lebern 10a = 260,16 mg.
Auf 1 g Leber 20,81 mg = 2,081 % Glykogen.
Gesamtglykogen der Lebern 10b = 67,71 mg.
Auf 1 g Leber 5,42 mg = 0,542 % Glykogen.

Pro 1 g Leber enthalten die Caseinlebern 15,39 mg Glykogen mehr.

In diesen Versuchen bestätigt sich die von früheren Autoren gefundene Tatsache, daß Casein, welches in seinem Molekül

keine Kohlenhydratgruppe enthält, Glykogen bildet, und zwar in viel ausgesprochenerer Weise als Fleisch. Am sichersten geht das aus dem zweiten Versuche hervor (Nr. 10), wo durch vorherige Peptonzufuhr die Leber praktisch glykogenfrei gemacht worden war, indem in diesem Versuche die Leber durch reine Caseinfütterung auf einen Glykogengehalt von über 2% gebracht wurde.

Im starken Gegensatz hierzu steht die Tatsache, daß genau das gleiche Casein, wenn es, durch totale Hydrolyse in seine Abbauprodukte zerlegt, als Nahrungsmittel gegeben wird, die Leber nur auf einen wesentlich geringeren Glykogengehalt zu bringen vermag. Der Unterschied beträgt im Versuch 6 38%, im Versuch 10 sogar 74%. Letzterer Versuch ist der viel maßgebendere, weil keine Kohlenhydrate daneben gefüttert wurden und die Lebern zu Beginn des Versuches praktisch glykogenfrei waren. Zwar erweist sich auch das hydrolysierte Casein als befähigt, Glykogen zu bilden, namentlich wenn man es mit Pepton vergleicht. Aber dies ändert an der Hauptsache des großen Unterschiedes zwischen Casein und hydrolysiertem Casein nichts. Da sonst, namentlich in Versuch 10, gar keine Verschiedenheit in der Ernährung besteht, geht aus diesen Caseinversuchen mit großer Deutlichkeit hervor, daß die Ernährung mit einem Eiweißkörper nicht identisch ist mit einer Ernährung ausschließlich durch die Spaltprodukte des gleichen Eiweißkörpers. Das Verhalten der Leber im letzteren Falle ist dabei ein anderes, wie sich aus dem Unterschied in der Glykogenbildung zeigt. Es ist hier der positive Beweis dafür erbracht, daß die Leber einen Anteil an der Erzielung desjenigen Zustandes nimmt, der erreicht wird, wenn anstatt Eiweiß selbst seine Spaltprodukte verfüttert werden, d. h. daß sie in den beiden Fällen eine andere Arbeit zu leisten hat. Mag auch der Endeffekt beider Ernährungsarten, wenn sie beide richtig geleitet werden, annähernd der gleiche sein, so darf man sich doch nicht den Konsequenzen der biologisch wichtigen Tatsache entziehen, daß die Wege zur Erreichung dieses Zieles durchaus verschiedene sind. Es wird wohl bei Verfolgung der positiven Anhaltspunkte, von denen jetzt schon eine ganze Anzahl vorliegen, gelingen, die Funktion der Leber bei Ernährung mit Eiweiß und Eiweißspaltprodukten noch

schärfer zu präzisieren und damit überhaupt einen neuen Einblick in die Funktion der Leber zu gewinnen.

In einem weiteren Versuche verglich ich die Wirkung von Fleisch mit derjenigen von Casein + Pepton, um zu sehen, wie Pepton die sicher festgestellte Glykogenbildung durch Casein beeinflussen würde.

Versuchsreihe 13.

	Serie 13a.	Serie 13b.
19. II.	15 g Pepton.	15 g Pepton.
20. II.	15 g „	15 g „
21. II.	80 g rohes Fleisch.	16 g Casein, 8 g „
22. II.	80 g „ „	18 g „ 9 g „
23. II.	80 g „ „	18 g „ 9 g „
24. II.	80 g „ „	18 g „ 9 g „
25. II.	80 g „ „	18 g „ 9 g „

Vom zweiten Tage der Fleisch- resp. Caseinfütterung an verschwand die grüne Farbe des Harnes, die bei der reinen Peptonfütterung aufgetreten war, und es ließ sich kein Gallenfarbstoff mehr nachweisen. Das Resultat der Glykogenbestimmung war folgendes:

13a (Fleisch): 331,77 mg Glykogen auf 18,9 g Leber.
Auf 1 g Leber 17,55 mg = 1.755 % Glykogen.

13b (Casein + Pepton): 364,49 mg Glykogen auf 19,3 g Leber.
Auf 1 g Leber 18,89 mg = 1,889 % Glykogen.

Bei dieser Kombination des Futters ($^2/_3$ Casein, $^1/_3$ Pepton) ist die Glykogenbildung bei beiden Ernährungsarten ungefähr die gleiche. Hervorgehoben mag werden, daß beide Tierreihen vorher glykogenfrei gemacht wurden. Die Glykogenbildung infolge alleiniger Fleischnahrung ist für Ratten in diesem Falle eine ziemlich große. Der Erfolg dieses Versuches lehrt, daß die Förderung der Glykogenbildung durch Casein und die Hemmung durch Pepton miteinander interferieren, so daß ein mittlerer Wert resultiert. Das Ergebnis ist ferner ein neuer Beweis dafür, daß Pepton nicht etwa durch Erzeugung eines Darmkatarrhes oder sonst einer toxischen Wirkung die Glykogenbildung hemmt, denn beides hätte in diesem Versuche verhindert, daß die glykogenfreie Leber von neuem Glykogen ansetzte.

Da ich Casein zu verschiedenen Malen als Hauptnahrung bei Versuchen mit Aminosäuren und als Vergleichsnahrung verwendete, wobei sich immer hohe Werte für das gefundene Glykogen ergaben, lag der Verdacht nahe, daß dasselbe vielleicht Kohlenhydrate als Verunreinigung enthalten könnte. Zur Sicherheit stellte ich daher eine Probe an in der Weise, daß ich zirka 1 g Casein in 200 ccm Wasser brachte, mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure versetzte und 3 Stunden kochte. Darauf prüfte ich auf Zucker, wobei sich ein vollständig negatives Resultat ergab, zum Beweis, daß im Casein weder Zucker noch Stärke oder Glykogen enthalten war.

Zwei Versuche wurden mit Erepton angestellt, da es nützlich erschien, dieses von Abderhalden und seinen Mitarbeitern mit vielem Erfolg zur Eiweißsynthese benutzte Präparat auf sein Vermögen, Glykogen zu bilden, mit Fleisch zu vergleichen. Es stand mir noch der Rest des Ereptons zur Verfügung, das Professor Abderhalden einst gütigst Professor Asher zu Versuchszwecken überlassen hatte. Die gegebenen Fleisch- und Ereptonmengen wurden so bemessen, daß beide gleichen Stickstoffgehalt besaßen.

Versuchsreihe 7.

Gruppe 7a.				Gruppe 7b.			
12. XII.	80 g Fleisch,	2 g	Brot.	12 g Erepton,		2 g	Brot.
13. XII.	80 g „	4 g	„	12 g	„	4 g	„
14. XII.	80 g „	4 g	„	12 g	„	4 g	„
15. XII.	80 g „	4 g	„	10 g	„	4 g	„
16. XII.	80 g „	4 g	„	10 g	„	5 g	„
17. XII.	80 g „	4 g	„	8 g	„	6 g	„

Trotz verschiedener Kunstgriffe, die versucht wurden, um den Geschmack des Ereptons zu korrigieren, war die Nahrungsaufnahme in den beiden Ereptonversuchen eine ziemlich unregelmäßige, besonders an den 2 bis 3 ersten Tagen. Das aus Pferdefleisch hergestellte Erepton zeigte sehr scharfen Geruch und Geschmack. Zudem verursachte es den Tieren in beiden Versuchen bald Durchfall.

Bei der Tötung der Ratten am 18. XII. ergab sich als Gewicht der Lebern:

7a (Fleisch): 16,75 g, 7b (Erepton): 12,10 g.

Gesamtglykogen der Lebern 7a 333,72 mg.

Auf 1 g Leber 19,92 mg = 1,992 % Glykogen.

Glykogen der Lebern 7b 103,22 mg.
Auf 1 g Leber = 8,53 mg = 0,853% Glykogen.
1 g Fleischleber enthält 11,39 mg Glykogen mehr.

Versuchsreihe 8.

	Gruppe 8a.		Gruppe 8b.	
16. I. 13.	70 g Fleisch,	7 g Brot.	8 g Erepton,	7 g Brot.
17. I.	70 g „	7 g „	9 g „	7 g „
18. I.	70 g „	5 g „	10 g „	5 g „
19. I.	70 g „	4 g „	11 g „	4 g „
20. I.	70 g „	4 g „	11 g „	4 g „

Bei der vermehrten Zutat von Brot wurde das Erepton noch ziemlich gut gefressen, hingegen stellte sich bei den Tieren auch diesmal Durchfall ein. Die Tiere wurden am 21. I. getötet; die Lebern wogen:

8a (Fleisch): 14,89 g, 8b (Erepton): 14,98 g.

Die Analyse ergab für die Gruppe 8a eine Glykogenmenge von 90,33 mg, auf 1 g Leber 6,07 mg = 0,607%; für die Gruppe 8b einen Glykogengehalt von 102,13 mg, also auf 1 g Leber 6,82 mg = 0,682%.

In diesem letzten Versuche ist somit der Glykogengehalt der Ereptontiere gleich dem der Fleischtiere. Leider war mit diesen beiden Untersuchungen der Vorrat an Erepton erschöpft, und da sich solches nicht leicht beschaffen ließ, mußte ich von weiteren Experimenten mit Erepton absehen. Die erhaltenen Resultate wird man vorläufig am einfachsten dahin deuten, daß Fleisch und tief abgebautes Fleisch etwa in gleichem Umfang bei Ratten befähigt sind, Glykogen zu bilden. Den Mindergehalt von 57% in Versuch 7 der Ereptonratten gegenüber den Fleischratten möchte ich eher einer mangelhaften Nahrungsaufnahme als einer spezifischen Ereptonwirkung zuschreiben. Das Wesentliche ist demnach, daß die vorherige Aufspaltung des Fleisches in die Gesamtheit der Aminosäuren keineswegs der Glykogenbildung förderlich ist, wie man vielleicht erwarten würde, wenn die Erfahrungen im Pankreas- und Phlorizindiabetes und bei Perfusion der überlebenden Leber mit einzelnen Aminosäuren in Betracht gezogen werden. Vorbehaltlich weiterer Versuche kann die Vermutung ausgesprochen werden, daß eben diese Wirkung einzelner Aminosäuren dadurch verwischt wird, daß der rasche Zustrom größerer Mengen der Ge-

samtheit aller Aminosäuren der Leber andere Aufgaben aufbürdet. Das gleiche würde bei Ratten auch gelten, wenn übermäßige Mengen von Fleisch allein gefüttert werden.

Natürlich ist noch eine andere Möglichkeit denkbar, nämlich die, daß die obengenannten Erfahrungen mit einzelnen Aminosäuren nicht ein normales, sondern ein pathologisches Geschehen darstellen. Auch diese Möglichkeit ist experimenteller Untersuchung zugänglich. Sie ist nur insofern weniger wahrscheinlich, als die Arbeiten von Embden und seinen Mitarbeitern gelehrt haben, daß die Bildung von Zucker und Aminosäuren in der Leber eine reversible Reaktion zu sein scheint.

Es ergab sich aus dem Vorstehenden, daß einzelne Aminosäuren auf ihr Vermögen, Glykogen zu bilden, zu prüfen waren.

An Aminosäuren standen Alanin- und Glutaminsäure zur Verfügung, die wir der Güte der Firma Hoffmann, La Roche & Co. in Basel verdankten. Als Nahrungsgrundlage verwendete ich bei den Versuchen, die ich mit diesen Substanzen anstellte, Casein, und zwar aus verschiedenen Gründen. Vor allem wurde dieses Futter von den Ratten gern gefressen, sodann konnte es gleichzeitig ohne Beigaben den Vergleichstieren gegeben werden. Dabei ließ sich die Nahrung, die Versuchstiere und Vergleichstiere bekamen, leicht quantitativ und qualitativ gleich bemessen. Endlich gibt das Casein an und für sich einen größeren Glykogengehalt der Leber als Fleischfütterung, was für die Untersuchungen nur vorteilhaft sein kann. Es wurde auch diese Caseinnahrung mit oder ohne Zutat von Aminosäuren stets gern gefressen und gut ertragen. Die Ratten wurden zu Beginn des Versuches durch Pepton glykogenfrei gemacht.

Versuchsreihe 9.

	Gruppe 9a.	Gruppe 9b.
23. I. 13.	14 g Casein.	14 g Casein, 1,0 g Alanin.
24. I.	15 g „	15 g „ 1,5 g „
25. I.	15 g „	15 g „ 2,0 g „
26. I.	14 g „	14 g „ 1,5 g „
27. I.	15 g „	15 g „ 2,0 g „

Am 28. I. wurden die Ratten getötet; es betrug das Gewicht ihrer Lebern:

9a (Casein): 13,40 g. 9b (Casein + Alanin): 13,15 g.

Für den Glykogengehalt ergab die Analyse folgende Werte:

9a. Gesamtglykogen 50,98 mg.
Glykogen pro 1 g Leber = 3,81 mg = 0,381%.

9b. Gesamtglykogen 120,41 mg.
Glykogen pro 1 g Leber = 9,17 mg = 0,917%.

Differenz zugunsten der Alaninlebern 5,36 mg pro 1 g Leber. Es ergibt sich somit ein Mehrgehalt der Alaninratten an Glykogen von 58% gegenüber den nur mit Casein gefütterten Tieren, d. h. bei Zugabe von annähernd 0,5 g Alanin pro Tag und Tier zu der Caseinnahrung zeigt die Leber einen mehr als doppelt so hohen Glykogengehalt wie ohne diese Alaninzulage. Wenn auch der absolute Glykogengehalt der Lebern kein sehr hoher ist, so zeigt doch dieser Versuch sehr deutlich, daß die einzelne Aminosäure Alanin anders wirkt als Pepton und hydrolysiertes Casein, indem sie kein Hemmnis für die Glykogenbildung ist, vielmehr dieselbe fördert. Es reiht sich dieser Versuch von mir den schon in der Literatur vorhandenen an, daß Alanin an der Zuckerbildung beteiligt sein kann.

Gerade umgekehrt war das Ergebnis bei Fütterung mit einem Zusatz von Glutaminsäure, wie der folgende Versuch zeigt. Die Anordnung war auch hier so, daß der Caseinnahrung 0,5 g Glutaminsäure täglich und per Tier zugesetzt wurden, während die Kontrolltiere dieselbe Caseinmenge ohne jede Zutat erhielten.

Versuchsreihe 11.

	Gruppe 11a.	Gruppe 11b.
6. II. 13.	15 g Pepton.	15 g Pepton.

Am folgenden Tage tritt Grünfärbung des Harnes auf, und es beginnt die Fütterung mit:

7. II.	16 g Casein.	16 g Casein, 1,0 g Glutaminsäure.
8. II.	16 g „	16 g „ 1,5 g „
9. II.	18 g „	18 g „ 2,0 g „
10. II.	18 g „	18 g „ 2,0 g „
11. II.	18 g „	18 g „ 2,0 g „

Das Resultat war:

11a (Casein): 309,61 mg Glykogen auf 14,50 g Leber.
Auf 1 g Leber 23,94 mg Glykogen = 2,394%.

11b (Casein + Glutaminsäure): 151,10 mg Glygogen auf 14,0 g Leber.
Auf 1 g Leber 10,70 mg Glykogen = 1,070%.

Bei Zusatz von ungefähr 0,5 g Glutaminsäure zu dem als Futter dienenden Casein wird also im vorliegenden Versuche

der Glykogengehalt der Leber um 13,24 mg oder um 55% kleiner als bei Caseinfütterung allein. Dieser Befund stimmt mit der Beobachtung von Baer und Blum überein, daß Glutarsäure bei Diabetes die Zuckerausscheidung vermindert. Es ist somit höchstwahrscheinlich, daß diese beiden sehr ähnlichen Wirkungen nahe verwandter Substanzen, die Herabsetzung der Wirkung des Caseins auf die Glykogenbildung durch die Glutaminsäure und die günstige Beeinflussung des Diabetes mellitus durch die Glutarsäure in naher Beziehung zueinander stehen oder vielleicht identisch sind. Worauf aber diese eigentümliche Wirkung beruht, ist schwer zu sagen. Auf jeden Fall spielt dabei die Aminogruppe keine Rolle, da ja die Glutarsäure keine solche besitzt, und wir dürfen also die Hemmung der Glykogenbildung durch die Glutaminsäure nicht als spezifische Aminosäurenwirkung auffassen.

In Versuch 12 verglich ich noch die Wirkung von Alanin und Glutaminsäure nebeneinander. Auch diesmal wurden die Ratten durch 2 tägige Peptonfütterung vorbehandelt.

Versuchsreihe 12.

	Gruppe 12a.	Gruppe 12b.
12. II. 13.	15 g Pepton.	15 g Pepton.
13. II.	15 g „	15 g „

Da die Ratten am 1. Tage nur einen kleinen Teil des Peptons nahmen, zeigte sich die charakteristische Wirkung in Form der Grünfärbung des Urins erst am 2. Tage.

	Gruppe 12a.				Gruppe 12b.			
14. II. 13.	18 g	Casein,	2,0 g	Alanin.	18 g	Casein,	2,0 g	Glutaminsäure.
15. II.	18 g	„	1,5 g	„	18 g	„	2,4 g	„
16. II.	18 g	„	1,5 g	„	18 g	„	2,4 g	„
17. II.	18 g	„	1,3 g	„	18 g	„	2,2 g	„
18. II.	18 g	„	1,5 g	„	18 g	„	2,4 g	„

Alanin und Glutaminsäure wurden annähernd im Verhältnis ihres Molekulargewichtes (Alanin 89, Glutaminsäure 146) dem Casein zugesetzt, so daß die darin zugeführten Stickstoffmengen für beide Tierserien gleich waren. Am 19. II. wurden die Ratten getötet; es betrug das Gewicht der Lebern:

12a (Alanin): 15,50 g. 12b (Glutaminsäure): 15,55 g.

Gesamtglykogen der Lebern 12a 326,67 mg.
Auf 1 g Leber 21,07 mg = 2,107% Glykogen.

Gesamtglykogen der Lebern 12b 233,04 mg.
Auf 1 g Leber 14,09 mg = 1,499% Glykogen.

Mehrgehalt der Alaninlebern: 6,08 mg Glykogen, auf 1 g Leber = 47% im Vergleich zu den Glutaminsäurelebern.

In beiden Fällen ist der absolute Glykogengehalt ein absolut sehr hoher. Trotzdem tritt der Unterschied zwischen Casein + Alanin und Casein + Glutaminsäure deutlich hervor, indem die mit ersterer Kombination gefütterten Tiere 41% mehr Glykogen in der Leber enthalten, als die mit letzterer Kombination ernährten. Dadurch, daß in allen 3 Versuchsreihen Alanin in förderndem, Glutaminsäure in hemmendem Sinne wirkt, wird, glaube ich, die Schwierigkeit behoben, die darin liegt, daß die absoluten Werte der Glykogenbildung in den verschiedenen Versuchsreihen ungleich sind. Dieser Schwierigkeit ist man beim Studium der Glykogenbildung von jeher begegnet, weil bei derselben ein nicht beherrschbarer, physiologischer, individueller Faktor mitspielt, genau so wie bei der Fettbildung verschiedener Individuen. Leider stand mir nicht mehr Material zur Verfügung, so daß ich nicht durch eine größere Anzahl von Versuchen den Einfluß des individuellen Faktors noch mehr herabdrücken konnte. Es sind aber weitere Versuche in Aussicht genommen, um in größerem Umfange den Anteil einzelner Aminosäuren an der Glykogenbildung zu untersuchen und auch zu prüfen, wie die quantitativen Verhältnisse bei denjenigen Aminosäuren liegen, die die Glykogenbildung fördern. Wenn ich nach meinen 3 Versuchsreihen urteile, so gewinnt es den Anschein, als ob das Vermögen einzelner Aminosäuren, in Kohlenhydrate überzugehen, in den Versuchen an Tieren mit experimentellem Diabetes größer sei, als unter physiologischen Bedingungen, ein etwaiger Unterschied, der für das Verständnis der Pathogenese des Diabetes nicht gleichgültig wäre.

Die hier gefundenen Resultate lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

1. Pepton als einzige Nahrung, mit nur geringen Zutaten zur Geschmacks- und Kostverbesserung, macht die Leber von Ratten praktisch glykogenfrei. Auch bei Zugabe von nur geringen Mengen von Kohlenhydraten drückt es den Glykogengehalt der Leber von Ratten auf sehr geringe Werte herunter. Erst bei Zutat von reichlichen Mengen von Kohlenhydraten oder Casein wird die hemmende Wirkung des Peptons auf die

Glykogenbildung erheblich zurückgedrängt. Pepton hat bei Ratten, wie schon Pletnew bei Hunden fand, eine starke Reizwirkung auf die Leber, erkennbar an dem Auftreten von Gallenfarbstoff im Harn.

2. Möglichst kohlenhydratfreies Fleisch bewirkt im Gegensatz zu Pepton Glykogenansatz bei Ratten; derselbe ist aber meist auffallend klein.

3. Casein begünstigt die Glykogenbildung bei Ratten. Dieselbe ist hierbei erheblich größer als bei Fleischnahrung. Hingegen übt hydrolysiertes Casein, obwohl es alle Bestandteile des nativen Caseins enthält, einen sehr ausgesprochen hemmenden Einfluß, wenn auch einen nicht so großen wie bei Pepton, auf die Glykogenbildung aus.

4. Aus 1. und 3. folgt, daß die ausschließliche Zufuhr von Eiweißabbauprodukten der Leber eine ganz andere Arbeit aufbürdet, als die Ernährung mit nativem Eiweiß und mit gemischter Kost. Hieraus, sowie aus früheren Arbeiten geht ferner hervor, daß der gleiche Endeffekt bei Ernährung mit Eiweiß und Eiweißabbauprodukten unter Beteiligung der Leber auf verschiedenem Wege erreicht wird.

5. Erepton allein wird von Ratten nicht vertragen. Bei Zutat von Kohlenhydraten wirkt es auf die Glykogenbildung annähernd wie Fleisch. Keinesfalls begünstigt die Aufspaltung des Fleisches die Glykogenbildung. Möglicherweise handelt es sich hierbei um ein Ineinandergreifen von hemmenden und fördernden Einflüssen.

6. Alanin fördert, Glutaminsäure hemmt in gewissem Umfang die Glykogenbildung bei der Ratte. Die Förderung ist aber anscheinend geringer, als diejenige der Zuckerausscheidung im Experiment am pankreas- oder phlorizindiabetischen Tiere.

Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten[1]).

II. Mitteilung.

Über einige Verbindungen der Fettsäuren mit Proteinen.

von

Guido Izar und Giuseppe Di Zuattro.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Durch frühere mit der stalagmometrischen Methode ausgeführte Untersuchungen über die Lipolyse hat einer von uns[2]) feststellen können, daß das frische Menschenserum die Eigenschaft besitzt, die Verbindungen des Glykokolls und des α-Alanins mit Palmitin-, Stearin-, Laurin- und Myristilsäure zu spalten. Ihren physikalischen Merkmalen sowie ihrer Löslichkeit in manchen bzw. Unlöslichkeit in anderen Lösungsmitteln zufolge zeigen solche Verbindungen manche Berührungspunkte mit dem gereinigten Pankreasantigen, das zur Meiostagminreaktion bei malignen Tumoren benutzt wird[3]). Wir haben daher das Verhalten der neoplastischen Sera gegenüber diesen Verbindungen näher prüfen wollen.

Das Resultat dieser ersten Untersuchungen fiel aber negativ aus: die neoplastischen Sera (aus Rattensarkomen und aus bösartigen Menschentumoren) zeigen mit den obenerwähnten Verbindungen ein von jenem der Normalseren nicht abweichendes Verhalten.

---

[1]) Vgl. Wiener klin. Wochenschr. 1912, Nr. 27 bis 33. Il. Tommasi 1912, Nr. 27. Bollettino d. Accademia Gioenia, Serie II, Fasc. 24. — Catania.

[2]) G. Izar, diese Zeitschr. 40 und Annali di Clinica Medica 1912.

[3]) Diese Zeitschr. 1913.

Wir gingen sodann zu einer anderen Reihe von Verbindungen über, die durch die Kuppelung der gleichen Fettsäuren mit Proteinen, wie z. B. dem Pepton, entstehen.

Technik für die Herstellung der Peptonverbindungen (oder Proteine im allgemeinen) mit Palmitin-, Stearin-, Laurin- und Myristilsäure:

Chlorsalz der Fettsäure (s. diese Zeitschr. **40**, Izar).

Lösung von Witte-Pepton: 10 g Pepton werden in 300 ccm 5 n-NaOH kalt gelöst (dem Pepton wird im Mörser die Lauge tropfenweise zugesetzt und dann sorgfältig bis zur vollständigen Auflösung der kleinen Klümpchen verrieben); die Lösung wird sodann zuerst durch Gaze und nachher mit der Wasserstrahlpumpe durch (mit NaOH-Lösung vorgewaschene) Glaswolle, bis die Lösung ganz klar wird, filtriert.

Diese Peptonlösung wird in einen 1 l fassenden Glaskolben gegossen und in Eis stark gekühlt; dazu wird allmählich und unter fortwährendem Schütteln der Mischung das in 200 ccm wasserfreiem Äther gelöste Chlorsalz der Fettsäure zugesetzt (das Chlorid wird in der Weise bereitet, daß man $^1/_{10}$ Gewicht des Fettsäuremoleküls mit Thionylchlorid oder Phosphorpentachlorid im Überschuß versetzt) und die Reaktion des Gemisches wiederholt prüft (dieselbe muß stets alkalisch sein und, falls sie neutral wird, durch Zusatz von 5 n-NaOH wieder alkalisiert werden). Das stark schäumende Gemisch wird noch 30 Minuten lang durchgerührt, bei Zimmertemperatur 4 bis 8 Stunden lang (nicht weniger als 4 Stunden und nicht länger als 12 Stunden) stehen gelassen; auf der Oberfläche sammelt sich eine grauweiße käsige Masse an.

Das Gemisch wird darauf in Eis wieder stark gekühlt, dann mit 5 n-HCl und nachher mit n-HCl unter fortgesetztem Schütteln und dauernder Abkühlung bis zu schwach saurer Reaktion versetzt; dann noch 6 bis 8 Stunden lang auf Eis gehalten (während dieser Zeit muß stündlich die Reaktion der Flüssigkeit [die schwach sauer bleiben soll] kontrolliert werden), dann durch dickes Filtrierpapier (Nr. 331, Dreverhoff) filtriert. Der zuerst mit Fließpapier und dann im Vakuum über $CaCl_2$ und NaOH getrocknete Filterrückstand wird mit siedendem Methylalkohol erschöpft, der Methylalkohol im Wasserbad bei 45 bis 50° verjagt; der wiederholt kalt mit Petroläther extrahierte, im Vakuum über $CaCl_2$ und NaOH getrocknete, im Mörser zerriebene Rückstand wird nochmals mit Petroläther kalt extrahiert und endlich wieder im Vakuum über $CaCl_2$ und NaOH getrocknet.

Die erhaltene Substanz stellt ein amorphes, gelbbraun-rötliches hygroskopisches Pulver dar, das in kaltem Methylalkohol schwer, in kaltem Äthylalkohol, Benzol, Chloroform und Aceton wenig löslich ist, in denselben Mitteln aber warm leicht löslich ist. Sie ist außerdem in wasserfreiem Äther und in Petroläther durchaus unlöslich, ebenso in H_2O, jedoch durch zweckmäßige Verteilung mit letzterem leicht emulgierbar, in warmen verdünnten Alkalilösungen heiß leicht löslich und aus denselben durch Zusatz von Säuren wieder fällbar.

Das Präparat besitzt keinen Schmelzpunkt. Bei 170° wird es weich und braun; es gibt die Biuretreaktion; enthält keinen Schwefel.

Die verschiedenen, aus den methylalkoholischen Lösungen durch Petroläther wieder gefällten Verbindungen zeigen folgende chemische Zusammensetzung:

	Laurilpepton %	Palmitilpepton %	Stearilpepton %	Myristilpepton %
Fettsäure	20,5	20,0	18,5	19,7
C	42,6	47,3	48,5	43,7
H	5,99	7,1	8,2	6,7
N	10,7	11,19	12,7	11,1

Die in der geschilderten Weise hergestellten Präparate setzten in feiner wässeriger Aufschwemmung (s. weiter unten), Nicht-Tumorseris zugesetzt, auch in stärkeren Verdünnungen die Oberflächenspannung deutlich herab.

Von denselben Präparaten, und zwar in solcher Verdünnung, daß sie die mit dem Traubeschen Stalagmometer gemessene Oberflächenspannung von Nicht-Tumorseren kaum merklich beeinflußten, bewirkte unter den sonstigen für die Meiostagminreaktion üblichen Bedingungen das Myristilpepton allein mit den Tumorseris eine wahrnehmbare Zunahme der Tropfenzahl; die übrigen Peptonverbindungen mit den genannten Fettsäuren erwiesen sich vollständig inaktiv.

Die Versuche wurden dann mit dem gleichen Erfolge mit Menschenserum (Tumorsera und Nicht-Tumorsera) sowie mit Rattenseris (Normalsera und Sarkomsera) wiederholt; daraufhin haben wir solche Untersuchungen auf eine größere Anzahl von Seris ausgedehnt, um dabei die günstigsten Verhältnisse sowohl für die Herstellung des Präparates als für die Versuchstechnik gleichzeitig festzustellen.

Wir möchten hier unsere diesbezüglichen Erfahrungen zusammenfassen, die sich auf 30 verschiedene Myristilpeptonpräparate stützen:

a) Die bei der Herstellung des Myristilpeptons durchzuführende Technik ist die bereits geschilderte.

b) Die Herstellung eines mehr oder weniger aktiven Präparates hängt hauptsächlich von den nachfolgend angeführten Umständen ab:

1. Anwendung von Myristylchlorid, das von Thionylchlorid und Phosphorpentachlorid vollständig befreit ist (d. h. nach der zur Herstellung des Chlorsalzes der Fettsäure angewandten Methode).

2. Sorgfältige und kontinuierliche Kühlung des Gemisches während der Bereitung und der Neutralisierung.

3. Sorgfältige, vorsichtige Neutralisierung unter Vermeidung eines Säureüberschusses.

4. Peinlichste Extrahierung mit siedendem Methylalkohol und nachträgliche Verdampfung im Wasserbad bei nicht mehr als $+45^0$ bis 50^0.

5. Sorgfältige Erschöpfung mit Petroläther nach sorgfältiger Verreibung des getrockneten Präparates im Mörser.

c) Die Präparate müssen im Exsiccator mit $CaCl_2$ und NaOH aufbewahrt werden.

d) Die wässerige Aufschwemmung muß fein, homogen und frei von Klümpchen sein. Zu diesem Zwecke werden 0,10 g des Präparates im Mörser ganz fein verrieben, mit einem Tropfen dest. H_2O befeuchtet und alsdann unter tropfenweisem Zusatze des bestimmten Wasserquantums weiter verrieben.

e) Die Technik für die Anstellung der Meiostagminreaktion ist die schon öfters geschilderte; anstatt der wässerigen Aufschwemmung von Pankreas- oder Tumorextrakten dient dabei als Antigen die nach der obenerwähnten Methode zubereitete wässerige Emulsion von Myristilpepton, dessen Titer durch Vorversuche mit Nicht-Tumorseris zu bestimmen ist.

f) Die wässerige Emulsion ist 1 bis 2 Tage bei Zimmertemperatur (nicht im Eisschrank) haltbar.

g) Die optimale Verdünnung des Serums stellt sich auf $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$; schwächere oder stärkere Verdünnungen liefern nicht größere, sondern meistens schwächere Ausschläge.

h) Die optimale Temperatur für die Reaktion ist $+50^0$ (Wasserbad). Die betr. Proben werden 1 Stunde lang dieser Temperatur ausgesetzt; ein längeres Verweilen setzt die Ausschläge herab.

i) Die Meiostagminreaktion wird von schwach alkalischer Reaktion nicht beeinflußt; schwach saure Reaktion scheint sie zu begünstigen (Essigsäure, Citronensäure).

Nachdem durch diese Untersuchungen festgestellt war, daß die an das Pepton gekuppelte Myristilsäure ein Präparat liefert, das durch seine physikalisch-chemischen Eigenschaften und durch sein Verhalten gegenüber Tumorseris mit dem gereinigten Pankreasantigen gegenüber manche Ähnlichkeit aufweist, haben wir prüfen wollen, ob auch andere Proteine zur Herstellung eines für die Meiostagminreaktion bei bösartigen Tumoren wirksamen Antigens benutzt werden können.

Außer verschiedenen Proteinen (s. Tab. A) haben wir zahlreiche, aus dem Handel bezogene Aminosäuren (s. Tab. B) geprüft.

Die bei der Herstellung ersterer Verbindungen (s. Tabelle A) befolgte Technik gleicht der bereits zur Bereitung des Myristilpeptons geschilderten; die erhaltenen Präparate zeigen betreffs der Löslichkeit, Fällung usw. Eigenschaften, die, von geringen qualitativen Verschiedenheiten abgesehen, mit denjenigen des Myristilpeptons fast identisch sind.

Zur Herstellung der in der Tabelle B angegebenen Präparate benutzten wir die für die Bereitung des Myristil-α-Alanins und Myristilglykokolls (s. diese Zeitschr., l. c.) herangezogene Methode. Die erhaltenen Präparate stellen graurosafarbene oder weißliche Pulver dar; in kaltem Methylalkohol, Äthylalkohol, Aceton und Benzol nicht leicht, wohl aber in denselben Mitteln warm gut löslich; in warmem Äther schwer löslich; durchaus unlöslich in H_2O und im Petroläther; in Wasser als solchem schwer, aus der betr. methylalkoholischen Lösung leicht emulgierbar; löslich in heißen konzentrierten NaOH-Lösungen, aus denen sie durch Zusatz von Säuren gefällt werden.

Sämtliche durch Verbindung der Myristilsäure mit diesen Stoffen gewonnenen Präparate haben wir auf ihre Brauchbarkeit als Antigene für die Meiostagminreaktion nach Titrierung mit Nichttumorseris mit Tumor-Ex- und Transsudaten sowie mit Sarkomrattenseris geprüft. Dank der Liebenswürdigkeit mehrerer Kollegen (Max Rosenberg, Fulchiero, Ferrari, v. Urisio u. a), die die von uns ihnen zugesandten Präparate gefälligst kontrolliert haben, konnten letztere auch gegenüber frischen menschlichen Normal- sowie Tumorseris geprüft werden, und zwar mit befriedigenden Resultaten[1, 2]).

[1]) M. Rosenberg, Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 20.
[2]) Fulchiero, Pathologica V., Nr. 112.

In den hier wiedergegebenen Tabellen bezeichnen wir mit +++ die Substanzen, die Verbindungen liefern, die in bezug auf die Meiostagminreaktion eine dem methylalkoholischen Pankreasantigen zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten gleiche oder stärkere Aktivität besitzen; mit ++ und resp. mit + bezeichnen wir solche, die Verbindungen mit mittlerer oder geringfügiger Aktivität liefern, mit −− diejenigen, die inaktive Verbindungen ergeben.

Tabelle A.

Pepton Witte	+++	Albumose aus Kalbspankreas durch Trypsinverdauung[1]	+++
Pepton Roche	+++	Albumose, wasserlöslich (Schuchardt)	++
Fleischpepton (Merck)	++	Agar-Agar	+++
Pepton aus Kalbspankreas durch Pepsinsalzsäureverdauung[1]	+++	Gelatine (Merck: Golddruck)	+++
Pepton aus Kalbspankreas durch Trypsinverdauung[1]	+++	Hämoglobin (Merck)	+
Albumin aus Eieiweiß (Erba)	++	Elastin (Schuchardt)	++
Albumin aus Eieiweiß (Schuchardt)	+	Edestin[3]	++
Albumin aus Eigelb (Schuchardt)	+	Blutfibrin (Schuchardt)	++
Albumin aus Blut (Schuchardt)	++	Globulin (Schuchardt)	++
Albumose aus Witte-Pepton[2]	+++	Paraglobulin (Schuchardt)	−−
Albumose aus Kalbspankreas durch Pepsinsalzsäureverdauung[1]	+++	Glutin (Schuchardt)	+
		Myosin (Schuchardt)	+
		Keratin (Schuchardt)	−−
		Casein-Kyrin[4]	+
		Proteine aus Tuberkelbacillen[5]	+++

Tabelle B.

Histidin	++	Phenyl-β-alanin	−−
Tyrosin	++	l-Asparagin	+
l-Leucin	+	Asparagin, synthetisch	+
Leucin, synthetisch	−−	α-Alanin	−−
Phenyl-α-alanin	−−	Glykokoll	−−

[1]) Hergestellt nach Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**, 38. — Isolierung von Peptonen. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 2, 533.

[2]) Hergestellt nach Haslam, Ref. in Tierfelder, Chemische Analyse 1909, 416.

[3]) Hergestellt nach Osborne, Darstellung der Proteine der Pflanzenwelt. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 2, 289.

[4]) Hergestellt nach Siegfried, Methoden zur Herstellung von Kyrinen. Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 2, 542. — Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**, 48, 50, 58.

[5]) Rückstand der Tuberkelbacillen nach Behandlung mit alkoholischer Sodalösung, Ansäuerung mit HCl, Extraktion mit Alkohol, Äther, Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther.

Gleichzeitig und parallel haben wir eine weitere größere Anzahl von Verbindungen mit den in Tabellen A und B angegebenen Stoffen und den in Tabelle C vorgezeichneten Fettsäuren hergestellt.

Tabelle C.

Fettsäuren	Fettsäuremischungen
Caprylsäure	Fettsäuren aus Kakaobutter
Capronsäure (normal)	„ „ Kalbspankreas
Caprinsäure	„ „ Hundepankreas
Palmitinsäure	„ „ Rattensarkom
Stearinsäure	„ „ menschlichem Sarkom
Laurinsäure	„ „ menschlichem Carcinom
	„ „ Tuberkelbacillen

Neben den reinen, im Handel erhältlichen Fettsäuren (Kahlbaum, Merck, Schuchardt) finden sich in der Tabelle C auch Gemische verschiedener Fettsäuren, die wir selbst aus verschiedenen Stoffen, Organen und Geweben extrahiert und von Ölsäure und Palmitinsäure nach folgender Methode befreit haben.

Technik. Die mit der Fleischmaschine zerkleinerten, auf Glasscheiben bei 37° unter Luftdurchleitung und sodann im Vakuum über $CaCl_2$ und NaOH getrockneten, in der Porzellanmühle fein pulverisierten Organe und Gewebe werden im Extraktionsapparat nach Soxhlet mit 98 bis 99%igem Alkohol, dann mit wasserfreiem Äther und endlich wieder mit Alkohol warm extrahiert. Zu den so erhaltenen alkoholischen, zur Trockne im Wasserbad bei 50 bis 55° eingeengten Extrakten wird der Ätherextrakt zugegossen und der Äther verjagt. Der Rückstand (oder die aus dem Handel bezogene Kakaobutter) wird alsdann mit alkoholischer Kalilauge verseift; aus der in Wasser gelösten Seife werden die Fettsäuren durch Zusatz von H_2SO_4 befreit. Die wasserfreien Fettsäuren werden sodann in Äthylalkohol gelöst; aus dieser alkoholischen Lösung wird vorerst durch Fällung mit gesättigter Magnesiumacetatlösung und durch Filtrierung (mit der Wasserstrahlpumpe) die Palmitinsäure verdrängt, dann durch gesättigte Bleiacetatlösung nochmals gefällt. Das so gewonnene Präcipitat wird behufs Verdrängung des Bleiacetatüberschusses mit Wasser gekocht, von letzterem durch wiederholtes Schmelzen befreit, mit kaltem Äther (der das Bleioleat auflöst) behandelt. Der unlösliche Teil wird schließlich mit Wasser gekocht, mit verdünnter HCl-Lösung behandelt und mit siedendem Wasser gewaschen.

Die mit diesen Verbindungen erhaltenen Resultate können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

a) Keine der untersuchten reinen Fettsäuren lieferte weder mit Pepton noch mit den übrigen verzeichneten Proteinen eine

für die Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten aktive Verbindung.

b) Sämtliche aus Kakaobutter, Pankreas (Kalb, Hund) malignen Tumoren (menschlichen Carcinomen und Sarkomen) und Rattensarkom isolierten Fettsäuregemische lieferten aktive Verbindungen für die Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten allein mit den in den Tabellen A und B verzeichneten Substanzen, die ihrerseits in Verbindung mit der Myristilsäure meiostagminaktive Substanzen gegeben hatten.

c) Die mit diesen Verbindungen (Fettsäuregemische + Proteine) erhaltenen Ausschläge kamen den mit den Myristilsäureverbindungen erhaltenen ungefähr gleich.

Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten.

III. Mitteilung.

Mannitester.

Von

Guido Izar und **Paolo Ferro.**

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Unsere Versuche über Verbindungen der Fettsäuren, die als Antigene zur Meiostagminreaktion dienen können, haben wir weiter fortgesetzt und dabei einige in neuester Zeit von Blorr[1]) geschilderte Verbindungen der genannten Säuren mit Kohlenhydraten der Untersuchung unterzogen.

Nach der von Blorr angegebenen Methode haben wir folgende Verbindungen hergestellt:

Stearil-Mannitester,	Palmitil-Mannitester,
Lauril-Mannitester,	Myristil-Mannitester.

Die gewonnenen Substanzen sind weiß, durchschimmernd, amorph. Aus Alkohol und Äther umkrystallisiert, erscheinen sie als Büschel mikroskopischer Nadeln. Die Nädelchen sind unlöslich in Wasser; in Äther, Benzol und Chloroform kalt leicht löslich; in Methylalkohol, Äthylalkohol und Aceton kalt wenig löslich. Die Äther-, Benzol- und Chloroformlösungen geben ziemlich stabile wässerige Emulsionen.

(Die Herstellung dieser Verbindungen ist ziemlich schwierig; von 5 mal gelang uns die Herstellung nur 2 mal.)

---

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 7, 427; 9, 141, 421, 429.

Die Ergebnisse[1]) dieser Versuchsreihe lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen:

a) Der Zusatz von wässerigen Aufschwemmungen obengenannter Mannitester zu verdünntem ($^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$) Blutserum bewirkt eine beträchtliche Herabsetzung der Oberflächenspannung;

b) 1 Stunde Erwärmen der Serum-Emulsionsgemische im Wasserbade bei 50° ruft eine deutliche Erhöhung ihrer Oberflächenspannung hervor;

c) Nichttumorsera sowie Tumorsera von Menschen und Ratten zeigen gegenüber diesen Mannitestern gleiches Verhalten.

[1]) Angesichts der negativen Resultate erscheint es überflüssig, die Protokolle der betreffenden Versuche ausführlich wiederzugeben.

Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten.

IV. Mitteilung.

Cholesterinester.

Von

Guido Izar und Paolo Ferro.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

In der zweiten Mitteilung wurde nachgewiesen, daß einige Verbindungen der Myristilsäure mit Proteinen stalagmometrisch mit Tumorseris spezifische Ausschläge bieten, gleich denen, die als Antigen methylalkoholische Tumor- oder Pankreasextrakte liefern. Weitere ähnliche Versuche haben wir über das Verhalten einiger Cholesterinester vorgenommen. Folgende Ester wurden geprüft:

Cholesteryl- { Valerianat, Propionat, Capronat, Acetat } von der Firma Schuchardt gekauft und umkrystallisiert.

Cholesteryl- { Palmitat, Stearat, Laurinat, Myristilat, Oleat, Eleidinat } nach der von Hurthle (Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 349) und von Röhmann („Untersuchungen über hochmolekul. Alkohole“ in Abderhaldens Handb. der biochem. Arbeitsmethoden 2, 252) angegebenen allgemeinen Technik hergestellt.

Als geeignetstes Lösungsmittel stellte sich in Vorversuchen ein Gemisch von Äthylalkohol abs. (Kahlbaum) und Aceton zu gleichen Teilen heraus, da aus solcher Lösung feine, ziemlich stabile wässerige Emulsionen besagter Ester zu gewinnen sind.

Kurz zusammengefaßt sind die Resultate dieser Versuche folgende:

a) durch Zusatz von Cholesterin-Esteremulsionen zu frischen (verdünnten oder unverdünnten) Blutseris wird eine deutliche Verminderung der Oberflächenspannung hervorgerufen;

b) 1 Stunde Erwärmung im Wasserbade bei 50° bewirkt keine nennenswerte Veränderung der Oberflächenspannung derselben Gemische;

c) menschliche Tumor- und Nichttumorsera sowie normale und Sarkomrattensera werden durch Zusatz der obenerwähnten Emulsionen von Cholesterinestern in bezug auf die Oberflächenspannung in gleicher Weise beeinflußt.

Über Lipoproteine.

III. Mitteilung.

Hämolytische Wirkung der Lipoproteine.

Von

Guido Izar und Paolo Ferro.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität zu Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Durch die Untersuchungen zahlreicher Forscher (Fukuhara, Kerner, v. Dungern, Morgenroth, Raubitschek, Landsteiner, Simon, Meyerstein, Friedemann und Sachs, Noguchi, Liebermann, v. Fenyvessy u. a.) sind seit langer Zeit die hämolytischen Eigenschaften von Seifen, Fettsäuren, Organextrakten, sowie die hemmende Wirkung auf diese Hämolyte seitens einer Reihe von Substanzen (Serum, Albumin, Pepton, Globulin, Cholesterin, Lecithin, Kalk-, Barium- und Quecksilbersalze usw.) bekannt.

In Fortführung unserer Untersuchungen über einige Verbindungen der Fettsäuren mit Proteinen haben wir ihre hämolytischen Eigenschaften, sowie die auf letztere von einigen jener Stoffe, welche die Seifenhämolyse hindern, entfaltete Wirkung geprüft.

Unsere Versuche erstrecken sich auf die Verbindungen von Pepton, Agar, Gelatine, Eiereiweiß, Albumose (Schuchardt), Elastin, Edestin, Histidin mit Myristil-, Laurin-, Palmitin- und Stearin-Säure.

In den Tabellen sind nur die bei den Untersuchungen mit Myristilpeptonpräparat Nr. 14 erhaltenen Resultate verzeichnet, weil diese letzteren sich nur quantitativ von denjenigen unterscheiden, die mit den Verbindungen derselben Fettsäure, mit Agar, Gelatine, Eiereiweiß, Albumose (Schuchardt), Elastin,

Edestin, Histidin, sowie mit den Präparaten dieser Proteine, mit Lauril-, Palmitin- und Stearin-Säure erzielt worden sind.

Die Ergebnisse der geschilderten Versuche sind folgende:

Tabelle I.

1 ccm 5%ige Blutkörperchenaufschwemmung[1]) + 1 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung + 1 ccm Emulsion in NaCl-Lösung von ges. methylalkoholischer Lösung Myristilpepton Nr. 14.

Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.

Titer der Emulsion	Blutkörperchen von						
	Rind	Meerschweinchen	Mensch	Kaninchen	Taube	Ziege	Hund
1/5	+++[2])	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/20	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/40	++[2])	+++	++	+++	+++	+	+++
1/80	+[2])	+++	+	+++	++	0	+++
1/160	0[2])	++	0	++	+	0	++

Das hämolytische Vermögen der Lipoproteine ist ziemlich erheblich (das Myristilpepton vermag z. B. in der Menge von etwa 0,5 mg in einer Stunde [bei 37°] 1 ccm 5% Ochsenblutkörperchen zu hämolysieren).

Tabelle II.

1 ccm 0,85%ige NaCl-Lösung + 1 ccm Emulsion in NaCl-Lösung von ges. methylalkoholischer Lösung Myristilpepton Nr. 14. Zusatz von 1 ccm Rinderblutkörperchenaufschwemmung.

Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.

Behandlung der Emulsion	Titer der Emulsion					
	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Nicht erhitzt	+++	+++	+++	++	+–	0
30′ im Wasserbad bei 50° erhitzt[3]) . .	+++	+++	+++	++	+	+–
30′ „ „ „ 65° „ [3]) . .	+++	+++	+++	++	+	+–
10′ „ „ „ 100° „ [3]) . .	+++	+++	+++	++	+	+–
30′ „ „ „ 50° und 10′ im Wasserbad bei 100° erhitzt[3]) . . .	+++	+++	+++	+++	+	+
30′ im Wasserbad bei 65° und 10′ im Wasserbad bei 100° erhitzt[3]) . . .	+++	+++	+++	+++	+++	+

[1]) Fünfmal mit NaCl-Lösung gewaschen.

[2]) 0 = keine Hämolyse; +– = Kuppe; + = geringe Hämolyse; ++ = fast komplette Hämolyse; +++ = komplette Hämolyse.

[3]) und spontaner Abkühlung auf Zimmertemperatur.

Die roten Blutkörperchen verschiedener Tierarten sind gegenüber der hämolytischen Wirkung der Lipoproteine verschieden empfindlich; in dieser Beziehung kann man die untersuchten Tierarten in folgender Empfindlichkeitsreihenfolge einreihen: a) Meerschweinchen, Kaninchen, Hund; b) Taube; c) Ochs, Mensch; d) Ziege.

Die während 30 Min. bei 50° und 65° und während 10 Min. bei 100° fortgesetzte Erhitzung entfaltet keinen Einfluß auf die hämolytische Wirkung der Lipoproteine; werden aber die Wasseraufschwemmungen zuerst während 30 Min. bei 50° bis 65° und dann während 10 Min. bei 100° erhitzt, so pflegt ihre hämolysierende Einwirkung erheblich höher zu steigen.

Tabelle III.

Nach 1 Stunde Kontakt bei 37° und Zusatz von 1 ccm Rinderblutkörperchenaufschwemmung.

Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.

Serum vom	1 ccm Serum mit 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnt auf	+ 1 ccm Emulsion gesättigter methylalkoholischer Lösung Myristilpepton Nr. 14, in 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnt auf			
		1/10	1/20	1/30	1/40
Rind	1/10	+++	+++	+−	0
	1/20	+++	+++	+	0
	1/40	+++	+++	++	+−
Meerschweinchen	1/10	+++	++	+−	0
	1/20	+++	+++	+	+−
	1/40	+++	+++	++	+−
Menschen	1/10	+++	++	0	0
	1/20	+++	++	+	0
	1/40	+++	+++	++	+−
Kaninchen	1/10	+++	+++	+−	0
	1/20	+++	+++	+	0
	1/40	+++	+++	++	+−
Taube	1/10	++	+	0	0
	1/20	+++	++	+−	0
	1/40	+++	+++	++	0
Hund	1/10	++	+−	0	0
	1/20	+++	++	0	0
	1/40	+++	++	+−	0
Ziege	1/10	+++	++	+	0
	1/20	+++	++	+	+−
	1/40	+++	+++	++	+−

Das vom Blutgerinnsel bei 37° abgesonderte Serum besitzt deutliche Hemmungsfähigkeiten gegen die hämolytische Wirkung der untersuchten Lipoproteine. Diese Fähigkeit ist in den verschiedenen Tierarten mehr oder weniger erheblich; in dieser Beziehung können diese letzteren nach der folgenden Abstufungsreihe klassifiziert werden: a) Hund; b) Taube; c) Mensch; d) Meerschweinchen, Ochs, Ziege; e) Kaninchen.

Tabelle IV.

Nach dem Erkalten Zusatz von 1 ccm Rinderblutkörperchenaufschwemmung.

Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.

Behandlung der Gemische	1 ccm Rinderserum, verdünnt auf $^1/_{80}$ mit 0,85%iger NaCl-Lösung, + 1 ccm Emulsion gesätt. methylalkohol. Lösung von Myristilpepton Nr. 14, mit 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnt auf				
	$^1/_5$	$^1/_{10}$	$^1/_{20}$	$^1/_{40}$	$^1/_{80}$
Bei Zimmertemperatur gehalten . .	+++	+++	++	+−	0
10 Min. im Wasserbad bei 50° erwärmt	+++	+++	++	+−	0
30 „ „ „ „ 65° „	+++	++	+	0	0
10 „ „ „ „ 100° „	+++	++	0	0	0
30 „ „ „ „ 50° u. dann 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	+++	++	0	0	0
30 „ „ „ „ 65° u. dann 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	+++	+	0	0	0

60 Min. bei 37° oder 30 Min. bei 50° dauerndes Erhitzen der Lipoprotein-Serumgemische hat keinen Einfluß auf die hemmende Serumwirkung; dieselbe wird aber durch stärkeres Erhitzen (30 Min. bei 65° oder 10 Min. bei 100°) der Gemische ganz erheblich gesteigert.

Der Zusatz von Cholesterin in wässeriger Emulsion neutralisiert die hämolytische Wirkung der Lipoproteine; diese Wirkung wird beträchtlich erhöht, wenn die Gemische (Cholesterin + Lipoprotein) 30 Min. auf 50 bis 65° oder 10 Min. auf 100° erhitzt werden.

Das Lecithin entfaltet gleichfalls eine schwache Hemmung, allein nur, wenn es 30 Min. bei 65° oder 10 Min. bei 100° mit den Lipoproteinen erhitzt wird.

Tabelle V.

Nach dem Erkalten Zusatz von 1 ccm Rinderblutkörperchenaufschwemmung.

Resultat der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37°.

Zusatz von	Behandlung der Gemische	1 ccm Emulsion von gesättigter methylalkohol. Lösung von Myristilpepton Nr. 14, mit 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnt auf				
		1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
1 ccm 0,85%iger NaCl-Lösg.		+++	+++	+++	++	+–
1 ccm wässeriger gesätt. Emulsion von Cholesterin	Bei Zimmertemperatur gehalten . .	+++	+++	+	+–	0
	30 Min. im Wasserbad bei 37° erwärmt	+++	+++	+	0	0
	30 „ „ „ „ 50° „	+++	++	+–	0	0
	30 „ „ „ „ 65° „	+++	+	+–	0	0
	10 „ „ „ „ 100° „	0	0	0	0	0
	30 „ „ „ „ 50° und 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	0	0	0	0	0
	30 „ „ „ „ 65° und 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	0	0	0	0	0
1 ccm 1/10,000 wäss. Emuls.[1]) von Lecithin (Merck, ex ovo)	Bei Zimmertemperatur gehalten . .	+++	+++	+++	++	+–
	30 Min. im Wasserbad bei 37° erwärmt	+++	+++	+++	++	+–
	30 „ „ „ „ 50° „	+++	+++	++	++	+–
	30 „ „ „ „ 65° „	+++	+++	++	++	+–
	10 „ „ „ „ 100° „	+++	++	++	++	+–
1 ccm 1,3%iger $CaCl_2$-Lösung	Bei Zimmertemperatur gehalten . .	+++	+++	+++	++	+
	30 Min. im Wasserbad bei 37° erwärmt	+++	+++	++	++	+
	30 „ „ „ „ 50° „	+++	+++	++	++	+–
	30 „ „ „ „ 65° „	+++	+++	++	++	+–
	10 „ „ „ „ 100° „	+++	+++	++	++	+–
	30 „ „ „ „ 50° und 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	+++	+++	++	++	+–
	30 „ „ „ „ 65° und 10 „ „ „ „ 100° erwärmt	+++	+++	++	++	+–

Calciumchlorid beeinflußt nur äußerst geringfügig die hämolytische Wirkung der Lipoproteine; Erhitzen bei 65 bis 100° erhöht die neutralisierende Wirkung dieses Salzes nicht.

Endlich haben wir noch untersuchen wollen, welche Wirkung durch Borsäure, Kaliumoxalat, gesättigte NaCl-Lösung auf die hemmende Wirkung von Serum, Cholesterin und Calciumchlorid entfaltet wird.

---

[1]) Bereitet aus 0,5%iger methylalkoholischer Lösung.

Tabelle VI.

Nach 1 Stunde Kontakt bei 37°, Zusatz von 1 ccm Rinderblutkörperchenaufschwemmung.

1/50 Emulsion gesätt. methylalkohol. Lösg. von Myristilpepton Nr. 14 ccm	0,85%ige NaCl-Lösung ccm	Rinderserum, verdünnt auf 1/5 ccm	Wässerige gesättigte Emulsion von Cholesterin ccm	1,3%ige $CaCl_2$-Lösung ccm	2%ige Borsäurelösung ccm	Gesättigte NaCl-Lösung ccm	1%ige Kaliumoxalatlösung ccm	Resultat der Hämolyse nach 2 Std. bei 37°
1	1,0							+++
1	0,5	0,5						0
1		0,5			0,5			0
1		0,5				0,5		0
1		0,5					0,5	0
1	0,5		0,5					+–
1			0,5		0,5			++
1			0,5			0,5		+++
1			0,5				0,5	+–
1	0,5			0,5				++
1				0,5	0,5			++
1				0,5		0,5		++
1				0,5			0,5	+–

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß:

keine der drei genannten Substanzen einen greifbaren Einfluß auf die hemmende Wirkung des Serums entfaltet;

die Cholesterinhemmung durch Zusatz von Borsäure oder Kaliumoxalat neutralisiert wird;

die Wirkung des Calciumchlorids durch Zusatz von Borsäure oder gesättigter NaCl-Lösung nicht beeinflußt, aber durch Zusatz von Kaliumoxalat begünstigt wird.

Über Lipoproteine.

IV. Mitteilung.

Verhalten gegenüber Blutserum verschiedener Tierarten.

Von

Guido Izar und Paolo Ferro.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität zu Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Aus den bekannten Untersuchungen von Micheli und Cattoretti[1]) über das verschiedene Verhalten der Pankreasantigene gegenüber menschlichen Nichttumorseris und den von verschiedenen Säugetieren (Kaninchen, Hund usw.) stammenden Seris ist hervorgegangen, daß, wenn letztere mit solchen Antigenverdünnungen, die unter denselben Bedingungen in Gegenwart von menschlichen Nichttumorseris stalagmometrisch nur geringfügige, wenige Linien messende Ausschläge geben, 1 Stunde auf 50° erhitzt werden, erhebliche und zuweilen noch höhere Ausschläge zeigen als jene, die beim Versetzen von Tumorseris mit den gleichen Antigenverdünnungen erhalten werden.

Angesichts der Identität der Ergebnisse der Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten, wenn als Antigene methylalkoholische Pankreasextrakte oder bestimmte Lipoproteine angewendet werden, habe ich auch das Verhalten dieser Substanzen gegenüber Seris verschiedener Tierarten und Tierklassen prüfen wollen.

Die bei diesen Untersuchungen befolgte Technik ist die für die Meiostagminreaktion sonst übliche gewesen: 9 ccm des

---

[1]) Accademia di Torino 1910.

zu untersuchenden auf $^1/_{20}$ mittels 0,85%iger NaCl-Lösung verdünnten Serums werden mit 1 ccm der wässerigen Lipoproteinaufschwemmung in absteigenden Konzentrationen versetzt. Als Kontrollprobe dient ein Gemisch von 9 ccm derselben Serumverdünnung + 1 ccm destill. Wasser. Die Oberflächenspannung sämtlicher Proben wird vor dem einstündigen Erhitzen bei 50°, sowie nach demselben (und folgender spontaner Abkühlung auf Zimmertemperatur) mit dem J. Traubeschen Stalagmometer gemessen.

Tabelle I.

9 ccm Serum verd. auf $^1/_{20}$, mit 0,85%iger NaCl-Lösung +	Serum von															
	Menschen		Rind		Hund		Kaninchen		Ziege		Taube		Huhn		Spatz	
	a[1])	b[2])	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1 ccm destill. H_2O .	56,5	56,7	57,3	57,7	57,5	58,0	58,0	58,8	58,1	58,5	61,3	62,0	61,8	62,5	62,0	62,6
1 ccm 1%ige wäss. Emulsion v. Myristilpepton Nr. 9 . .	56,8	57,8	57,9	59,9	58,3	60,0	58,8	60,5	59,0	60,4	63,7	64,2	64,0	64,7	65,0	65,7
1 ccm $^1/_{250}$ wäss. Emulsion von Myristilpepton Nr. 2[3]) . .	56,7	57,0	58,2	60,0	58,4	60,2	58,9	61,0	58,9	60,6	64,0	64,6	64,9	65,3	64,5	65,0
1 ccm $^1/_{300}$ wäss. Emulsion von Myristilelastin[3])	56,9	57,2	58,0	60,1	58,1	60,3	58,7	60,5	59,1	60,7	63,2	63,8	64,5	65,2	64,7	65,2
1 ccm $^1/_{300}$ wäss. Emulsion von Myristiledestin[3])	56,7	57,2	58,3	59,4	58,6	59,9	59,0	61,3	59,0	61,0	64,3	65,0	64,2	65,0	63,8	64,5
1 ccm $^1/_{300}$ wäss. Emulsion von Myristilhistidin[3])	56,8	57,1	58,0	59,3	58,2	59,4	58,8	60,4	58,9	60,6	63,8	64,5	64,8	65,5	63,6	64,3

Die in Tabelle I zusammengefaßten Resultate dieser Untersuchungen sind folgende:

Die mit verschiedenen Verdünnungen von Myristil-Pepton, -Edestin-, Elastin-, Histidin- und Albumoseemulsionen versetzten Ochsen-, Kaninchen-, Hund- oder Ziegensera zeigen vor dem Erhitzen Ausschläge, die etwas höher (0,5 bis 0,7 Tropfen) sind als die durch Zusatz derselben Lipoproteinverdünnungen zu menschlichen Nichttumorseris beobachteten.

[1]) Tropfenzählung sofort.

[2]) Tropfenzählung nach 1 Stunde bei 50° und spontaner Abkühlung auf Zimmertemperatur.

[3]) Gesättigte methylalkoholische Lösung.

Tauben-, Spatzen- und Hühnersera zeigt bei der gleichen Versuchsanordnung viel schärfere Ausschläge (1,5 bis 3 Tropfen).

Einstündiges Erhitzen bei 50° der von Säugetieren (Hund, Ochs, Kaninchen) stammenden Sera + Lipoproteinemulsion beeinflußt in greifbarer Weise ihre Oberflächenspannung, indem dieselbe eine Herabsetzung erfährt, die mit menschlichen Nichttumorseris unter gleichen Versuchsbedingungen nicht zutage tritt; die Gemische von Vögel- (Taube, Spatz, Huhn) Serum + Lipoproteinemulsion verändern hingegen nur in geringem Grade durch einstündiges Erhitzen bei 50° ihre jeweilige Oberflächenspannung.

Über Lipoproteine.

V. Mitteilung.

Immunisierungsversuche.

Von

Guido Izar und Prospero Mammana.

(Aus dem Institut für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der kgl. Universität zu Catania.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Mit bezug auf die Untersuchungen unserer Schule über die Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten haben wir gleichzeitig untersuchen wollen, ob die sich bei der Meiostagminreaktion als aktiv erwiesenen synthetischen Antigene imstande sind, in Anwesenheit von Tumorseris zugesetztes Meerschweinchenkomplement spezifisch abzulenken[1]).

Außerdem haben wir untersucht, ob es durch wiederholte Injektionen wässeriger Lipoproteinemulsionen bei Kaninchen gelingt, spezifische Antikörper hervorzurufen.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen[2]):

---

[1]) Außer der hämolytischen besitzen die Lipoproteine, ebenso wie die Seifen, Fette und Lipoide, eine deutliche antikomplementäre Wirkung; daher mußten wir durch Vorversuche den diesbezüglichen für jede einzelne Substanz sehr verschiedenen Titer bestimmen. Wir haben ferner den seitens des Serums auf diese Lipoproteinwirkung entfalteten Einfluß untersucht und dabei festgestellt, daß, zwar nicht konstant, wohl aber in den meisten Fällen dem Tumorserum in dieser Beziehung im Vergleich zu Nichttumorserum eine schwächere Hemmungswirkung zukommt. Dieses Verhalten entspricht den in früheren Untersuchungen (s. diese Zeitschr., 1914) über Hemmung der hämolytischen und toxischen Wirkungen der Lipoproteine durch Blutserum erhobenen Befunden.

[2]) Der negative Ausfall der Versuche veranlaßt uns, auf die ausführliche Anführung der Protokolle zu verzichten.

Menschliche Tumor- sowie Sarkomratten-Sera bewirken in Anwesenheit von bei der Meiostagminreaktion wirksamen synthetischen Antigenen keine spezifische Komplementablenkung.

Wiederholte intravenöse Injektionen von Myristil-Pepton, -Elastin, -Edestin, -Histidin und -Albumosenemulsionen sind nicht imstande, Bildung spezifischer Antikörper bei Kaninchen auszulösen, die durch Komplementablenkung oder durch Meiostagminreaktion nachweisbar sind.

Versuche mit Triketohydrindenhydrat.
Eine Methode zur quantitativen Bestimmung der —NH_2.COOH-Gruppe.

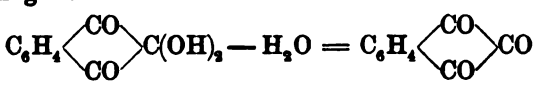
Von

E. Herzfeld.

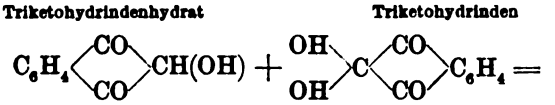
(Aus dem chemischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik Zürich.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1913.)

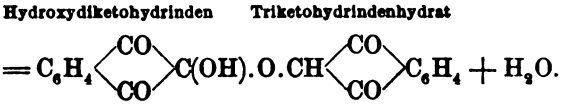
Nach Ruhemann[1]) entsteht durch Reduktion des Triketohydrindenhydrats zunächst Triketohydrinden, sodann Hydrindantin, das unter bestimmten Bedingungen blaue oder rote Lösungen gibt.



Triketohydrindenhydrat — Triketohydrinden

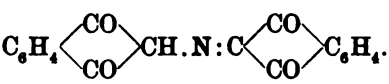


Hydroxydiketohydrinden — Triketohydrindenhydrat



Hydrindantin

Ferner zeigte er, daß beim Erwärmen von Triketohydrindenhydrat mit Aminosäuren diese unter CO_2- und NH_3-Austritt zum Aldehyd oxydiert werden und daß hierbei das dem Murexid[2]) entsprechende Diketohydrindylidendiketohydrindamin entsteht.



Diketohydrindylidendiketohydrindamin

[1]) Ruhemann, Journ. of Chem. Soc. Transact. **97**, 1438, 1910; **99**, 792, 1911; **101**, 780, 1912.

[2]) Strecker, Liebigs Ann. d. Chem. u. Pharmakol. **47**, 363, 1862.

Dieser Körper konnte auch durch Einwirkung von Ammoniumcarbonat und Ammoniumacetat auf Hydrindantin erhalten werden.

E. Abderhalden[1]) verwendet obige Reaktion (Ninhydrinreaktion) zum Nachweis der durch Fermente abgebauten, dialysierbaren Stoffe, indem er 10 ccm des Dialysats mit 0,2 ccm einer 1%igen Ninhydrinlösung unter sorgsamer Beachtung der vorgeschriebenen Bedingungen 1 Minute lang kocht, wobei eine entstandene Blaufärbung eine positive Reaktion anzeigt.

W. Halle, E. Loewenstein und E. Přibram[2]) fanden, daß eine Reihe Alkohol-, Aldehyd- und Ketogruppen enthaltende Substanzen mit Triketohydrindenhydrat eine Blaufärbung erzeugen. Diese Reaktion soll durch die Gegenwart freier OH-Ionen verstärkt werden. Ferner soll die durch Kochen von Aminosäuren mit Triketohydrindenhydrat entstehende Blaufärbung schon in der Kälte und bei sicherem Ausschluß von Sauerstoff auftreten.

C. Neuberg[3]) hat nachgewiesen, daß eine große Anzahl Amine, Aminoaldehyde, Harnstoffderivate, das Taurin (Aminosulfosäure), Ammoniaksalze von Aldehyd- und Ketonsäuren, ferner eine Reihe organischer Säuren, Dicarbonylverbindungen und Halogenaldehyde, die vorher mit Ammoniak im Überschuß versetzt und durch Erwärmen davon befreit sind, auch positive Ninhydrinreaktion geben. Er kommt zu dem Schluß, daß die Anschauung, daß für einen positiven Ausfall der Ninhydrinreaktion eine freie Aminogruppe und eine freie Carboxylgruppe vorhanden sein müssen, nicht aufrecht erhalten werden kann und die Triketohydrindenreaktion nicht als eine „Probe auf Aminosäuren" ganz allgemein gelten darf.

E. Abderhalden betont, daß eine negative Ninhydrinreaktion nicht die Abwesenheit der mit Triketohydrindenhydrat reagierenden Körper bedeutet, sondern, daß diese in einer Konzentration vorhanden sind, die nicht genügte, um eine Färbung zu erzeugen. Er sagt auch: „Wir stehen somit vor der Tatsache, daß wir nur feststellen können, ob genügend Verbin-

[1]) E. Abderhalden, Abwehrfermente des tierischen Organismus usw. 1913.

[2]) W. Halle, E. Loewenstein und E. Přibram, diese Zeitschr. 55, 357, 1913.

[3]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 56, 500, 1913.

dungen zur Farbreaktion zugegen sind, nicht aber wieviel davon." Den Einfluß der Konzentration auf die Ninhydrinreaktion zeigt sehr gut folgender Versuch. Man kocht z. B. 1 mg Aminoessigsäure, enthalten in 2 ccm H_2O mit 0,2 ccm Ninhydrin 1 Minute lang, worauf eine blauviolette Färbung entsteht (positive Reaktion). Dann kocht man ebenfalls 1 mg Aminoessigsäure, aber in 5 ccm H_2O enthalten mit Ninhydrin, wobei eine schwache Violettfärbung entsteht (schwach positive Reaktion). Endlich wieder 1 mg Aminoessigsäure, in 10 ccm mit Ninhydrin gekocht, bleibt farblos (negative Reaktion).

In Anbetracht der Abhängigkeit der Ninhydrinreaktion von der Konzentration der verarbeiteten Lösung war der Gedanke naheliegend, daß man das Optimum der Reaktion durch vollständiges Eindampfen des Reaktionsgemisches erreichen könne. Zu diesem Zwecke wurden zunächst 0,2 ccm 1% wässerige Ninhydrinlösung in einer Porzellanschale, auf Zusatz von 10 ccm H_2O, auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, wobei ein rötlich gefärbter Rückstand zurückblieb, der sowohl in Wasser wie auch in absolutem Alkohol fast farblos (schwach gelblicher Schimmer) löslich war. Dampfte man dagegen 0,2 ccm Ninhydrin mit etwas Aminosäure ein, so erhielt man einen violettblauen Rückstand, der selbst beim längerem Erhitzen fast unverändert blieb und in absolutem Alkohol in roter bis blauvioletter Farbe löslich war. Hervorzuheben ist, daß der von Ninhydrin und Aminosäuren erhaltene Rückstand auch in siedendem Alkohol, ohne Abnahme der Farbenintensität, gelöst werden konnte, dagegen zeigte der wässerige blauviolette Auszug gegen kochendes Wasser eine deutliche Abnahme der Farbenintensität. Wenn die alkoholischen Extrakte rote Nuancen hatten, so konnten diese, durch Umrühren mit Hilfe eines mit Ammoniak angefeuchteten Glasstabes wieder in die violette oder blauviolette Farbe umgewandelt werden. Nachstehende Körper wurden auf ihr Verhalten gegenüber Ninhydrin unter obigen Bedingungen geprüft. Es kamen jeweilen 0,2 ccm Ninhydrin mit ziemlich viel der Substanz zur Verarbeitung; man dampfte mit etwas H_2O stets zur Trockne ein und erhitzte den Trockenrückstand noch eine Zeitlang, worauf dann mit absolutem Alkohol extrahiert wurde.

1. Glycerin, sehr schwach violett
2. Äthylalkohol, farblos
3. Traubenzucker, „
4. Formaldehyd, „
5. Milchzucker, schwach rötlich
6. Milchsäure, schwach rötlich
7. Oxalsäure, farblos
8. Aceton, „
9. Indol „
10. Gallensäuren „
11. Cholesterin „
12. Harnstoff, farblos
13. Harnsäure „
14. Hippursäure „
15. Kreatin „
16. Kreatinin „
17. Allantoin „
18. Ammoniak, rot
19. Ammoniumcarbonat, braunrot
20. Rhodanammonium, rot
21. Ammoniumchlorid, farblos
22. Ammoniumoxalat, stark violett.

Die von Glycerin, Milchzucker und Milchsäure nach obigem Verfahren entstehenden rötlichen Färbungen traten nur bei solchen starken Konzentrationen auf, die praktisch kaum in Frage kommen können. Dagegen müssen die Anwesenheit von Ammoniak, Ammoniumcarbonat und besonders Ammoniumoxalat, ferner die von Neuberg erwähnten Körper berücksichtigt werden. Wenn man aber als normale Ammoniakmenge des Blutserums 1 mg (in 100 ccm) annehmen kann, so kommt z. B. bei E. Abderhaldens Dialysierverfahren praktisch nur eine Menge von 0,005 mg in Betracht, die die Ninhydrinreaktion kaum beeinflussen kann. Sollten sich aber in einer Flüssigkeit größere Ammoniakmengen vorfinden, so können diese durch Zusatz von Magnesiumoxyd und Luftdurchleiten entfernt werden oder durch genaues Neutralisieren mit HCl oder H_2SO_4.

Was die übrigen von C. Neuberg untersuchten Verbindungen anbelangt, so ist zu prüfen, ob diese bei normalen Proteolysen überhaupt oder in solchen Mengen vorkommen, daß ihr Nachweis nach obiger Modifikation mit ähnlicher Empfindlichkeit gelingt, wie es für die Aminosäuren gefunden wurde. Bis diese Frage entschieden ist, glaubt Verfasser die Ninhydrinreaktion in obiger Modifikation wohl zum Nachweis der mit Triketohydrindenhydrat reagierenden, dialysierbaren Stoffe bei Proteolysen empfehlen zu können.

Bezüglich der Empfindlichkeit der Reaktion ist zu bemerken, daß z. B. zum Nachweis von Glykokoll und Alanin

schon eine Menge von 0,0005 mg genügt, um nach dem Eindampfen in 20 ccm absolutem Alkohol eine deutliche Violettfärbung zu erkennen, was einer Verdünnung von 1:40000000 entsprechen würde.

Die nächste Frage war, festzustellen, ob die Ninhydrinreaktion in dieser Form zur Ausarbeitung einer quantitativen, spektrophotometrischen Methode geeignet sei. Hierzu war erforderlich, daß sowohl die Extinktionskoeffizienten mit den Aminosäuremengen proportional sein sollen, wie auch der Quotient vom Extinktionskoeffizienten vom Prozent an

$$„—NH_2.COOH“$$

in der Aminosäure eine Konstante ergeben muß. Vorversuche ergaben, daß beide Forderungen erfüllt werden können.

Die Ausführung einer Bestimmung würde sich wie folgt gestalten:

Man bringt 0,5 ccm einer 1%igen wässerigen Ninhydrinlösung in eine Porzellanschale, fügt die zu prüfende (ammoniakfreie), neutral reagierende Lösung hinzu und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ein. Der Trockenrückstand wird mit kaltem, wenn schwerer löslich mit heißem absoluten Alkohol digeriert, wobei sich ein großer Teil auflöst. Die noch am Boden der Schale haftenden Anteile können mit Hilfe eines Glasstabes im absoluten Alkohol vollkommen zerrieben werden, wobei wieder ein großer Teil in Lösung geht. Man wiederholt dies Verfahren so lange, bis der zugesetzte Alkohol farblos bleibt. Sollten die im Meßzylinder angesammelten alkoholischen Extrakte keine violette bis blaue Farbe, sondern eine rote haben, so rührt man mit Hilfe eines mit Ammoniak angefeuchteten Glasstabes um, worauf dann die violette bis blaue Farbe auftritt. Man füllt nun diese Lösung mit absolutem Alkohol bis zu einem bestimmten Volumen auf, filtriert und füllt damit die eine Röhre (R. II) des Spektrophotometers. Zur Füllung der anderen Röhre (R. I) dampft man 0,5 ccm 1%iges Ninhydrin ganz trocken ein und löst den Rückstand in 20 ccm absolutem Alkohol (eine Menge, die zur Füllung der verwendeten 2 cm langen Röhren ausreicht). War die zu prüfende gefärbte Lösung bis 40, 50, 60 usw. ccm aufgefüllt, so vermerkt man eine 2, 2,5, 3fache Verdünnung und multi-

pliziert mit der entsprechenden Zahl den Extinktionskoeffizienten. Diese erhält man, wie bekannt, mit Hilfe der beiden abgelesenen Winkel α_1 und α_2; und zwar, wenn rechts Röhre I und links Röhre II liegt, so kann man α_1 ablesen, beim Auswechseln der Röhren aber α_2,

$$\varepsilon = \frac{\log \operatorname{tg} \alpha_1 - \log \operatorname{tg} \alpha_2}{d}. \quad d = \text{Röhrenlänge} = 2 \text{ ccm}.$$

Zur Bestimmung der Konstante wurden einige Aminosäuren untersucht (siehe Tabelle I).

Tabelle I.

Aminosäure	A Theor. %-Gehalt $-NH_2.COOH$	Verarbeitete Menge mg	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient ε	Quotient $\frac{\varepsilon}{A}$	Bemerkungen
Glykokoll	83,9	0,5	$\alpha_1 = 76^0$ $\alpha_2 = 12^0\,48'$	1,5585	0,019	3 Versuche 2,5fach verdünnt
Glykokoll	83,9	1,0	$\alpha_1 = 75^0\,54'$ $\alpha_2 = 13^0\,6'$	3,0830	0,037	5 „ „
Alanin	70,7	0,5	$\alpha_1 = 77^0\,24'$ $\alpha_2 = 11^0$	1,7025	0,024	2,5 „ „
Alanin	70,7	1,0	$\alpha_1 = 77^0\,30'$ $\alpha_2 = 10^0\,54'$	3,4240	0,048	5 „ „
Aminobuttersäure .	61,1	0,5	$\alpha_1 = 75^0\,48'$ $\alpha_2 = 14^0\,6'$	1,4960	0,024	2,5 „ „
Aminobuttersäure .	61,1	1,0	$\alpha_1 = 76^0\,30'$ $\alpha_2 = 14^0\,12'$	3,0410	0,049	5 „ „
Valin	53,7	0,5	$\alpha_1 = 73^0\,30'$ $\alpha_2 = 17^0\,36'$	1,2838	0,024	2,5 „ „
Valin	53,7	1,0	$\alpha_1 = 73^0$ $\alpha_2 = 17^0\,12'$	2,5595	0,048	5 „ „
Leucin	48,0	0,5	$\alpha_1 = 70^0$ $\alpha_2 = 22^0\,6'$	1,0380	0,022	2,5 „ „
Leucin	48,0	1,0	$\alpha_1 = 69^0\,30'$ $\alpha_2 = 21^0\,18'$	2,0910	0,043	5 „ „
Asparaginsäure . .	47,2	0,5	$\alpha_1 = 69^0\,6'$ $\alpha_2 = 20^0\,6'$	1,0680	0,023	2,5 „ „
Asparaginsäure . .	47,2	1,0	$\alpha_1 = 70^0\,18'$ $\alpha_2 = 19^0\,6'$	2,2665	0,048	5 „ „
Glutaminsäure . .	44,1	0,5	$\alpha_1 = 68^0\,12'$ $\alpha_2 = 24^0\,30'$	0,9240	0,021	2,5 „ „
Glutaminsäure . .	44,1	1,0	$\alpha_1 = 67^0\,6'$ $\alpha_2 = 24^0\,6'$	1,8090	0,041	5 „ „

Aus obiger Tabelle ist ersichtlich, daß sowohl zwischen den Aminosäuremengen und den Extinktionskoeffizienten eine Proportionalität zu finden ist, wie auch der Quotient von $\frac{\varepsilon}{A}$ eine ziemlich konstante Zahl darstellt. Der Mittelwert dieser Konstante bezogen auf je 1 mg der Aminosäure beträgt 0,046. Mit Hilfe dieser Zahl und des Extinktionskoeffizienten läßt sich der Prozentgehalt von $-NH_2.COOH$ wie folgt berechnen:

$$-NH_2.COOH\,\% = \frac{\varepsilon}{0{,}046}.$$

Tabelle II.

Eiweißkörper	Verarbeitete Menge mg	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient	$-NH_2.COOH$ %	Bemerkungen
Antipepton (Grübler)	1	$\alpha_1 = 73^0\,36'$ $\alpha_2 = 17^0\,6'$	1,3040	28,34	2 Versuche 2,5fach verdünnt
Pepton a. Albumin (Merck)	1	$\alpha_1 = 66^0\,6'$ $\alpha_2 = 24^0\,12'$	0,8760	19,04	2,5 „ „
Seidenpepton (Merck)	1	$\alpha_1 = 63^0\,54'$ $\alpha_2 = 26^0\,36'$	0,7615	16,54	2,5 „ „
Witte-Pepton (Merck)	1	$\alpha_1 = 63^0\,30'$ $\alpha_2 = 26^0$	0,7575	16,45	2,5 „ „
Amphopepton (Grübler)	1	$\alpha_1 = 53^0\,30'$ $\alpha_2 = 36^0\,30'$	0,3270	7,11	2,5 „ „
Pepton dep. sicc. a. Fibrin (Grübler)	1	$\alpha_1 = 45^0\,6'$ $\alpha_2 = 36^0\,48'$	0,1595	3,46	2,5 „ „
Pepton dep. alc. präc. (Grübler)	1	$\alpha_1 = 45^0\,18'$ $\alpha_2 = 36^0\,48'$	0,1633	3,55	2,5 „ „
Protalbumose n. Pick (Grübler)	10	$\alpha_1 = 81^0\,30'$ $\alpha_2 = 9^0$	2,0323	4,41	2,5 „ „
Hemialbumose n. Kühne (Grübler)	10	$\alpha_1 = 66^0\,18'$ $\alpha_2 = 22^0\,14'$	1,8560	4,03	5,0 „ „
Deuteroalbumose (Grübler)	10	$\alpha_1 = 60^0\,12'$ $\alpha_2 = 28^0\,30'$	1,3435	2,92	5,0 „ „
Heteroalbumose n. Pick (Grübler)	10	$\alpha_1 = 52^0\,12'$ $\alpha_2 = 36^0\,6'$	0,6185	1,34	5,0 „ „
Hühnereiweiß (Kahlbaum)	10	$\alpha_1 = 55^0\,30'$ $\alpha_2 = 33^0\,18'$	0,8635	1,87	5,0 „ „
Globulin (Grübler)	10	$\alpha_1 = 54^0\,30'$ $\alpha_2 = 39^0\,30'$	0,5765	1,25	5,0 „ „
Casein (Grübler)	10	$\alpha_1 = 54^0\,18'$ $\alpha_2 = 41^0\,6'$	0,5070	1,10	5,0 „ „
Vitellin a. Pflanzen (Grübler)	10	$\alpha_1 = 54^0$ $\alpha_2 = 41^0\,30'$	0,2398	0,52	2,5 „ „

(für 1 mg berechnet)

Man braucht also nur nach den oben beschriebenen Verfahren den Extinktionskoeffizienten (ε) zu bestimmen und diesen mit 0,046 zu dividieren, so erhält man direkt den Prozentgehalt an $-NH_2.COOH$ der gesuchten Aminosäure.

Es war auch von Interesse festzustellen, wie sich Peptone, Albumosen und Albumine dem Ninhydrin gegenüber verhalten. Ferner wieviel diese Körper von den mit Ninhydrin reagierenden Stoffen enthalten.

Aus Obigem geht hervor, daß die Menge der mit Ninhydrin reagierenden Körper, von den Peptonen aufsteigend, über die Albumosen bis zu den Eiweißkörpern stetig abnimmt. Daß selbst die Eiweißkörper mit Ninhydrin positiv reagieren, spricht wahrscheinlich dafür, daß dieselben entweder nicht völlig frei sind von dialysierbaren Stoffen, oder daß sie in ihren Lösungen in geringem Maße hydrolysiert werden. Ist dieser Gedankengang richtig, so eignet sich die beschriebene Methode dazu, sehr schwache Eiweißhydrolysen quantitativ zu verfolgen.

Als sehr geeignetes Versuchsmaterial schien mir die von E. Abderhalden geschilderte Eiweißabbautätigkeit der Fermente. Die hierzu notwendigen Sera und Dialysate wurden mir von den Herren Dr. Hirschfeld und Dr. Klinger (Hygiene-Institut) zur Verfügung gestellt, wofür und für die liebenswürdige Unterstützung bei den Versuchen ich ihnen meinen Dank aussprechen möchte. Es wurde stets peinlichst genau nach dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren gearbeitet, nur wurden genau gemessene Mengen der Dialysate mit 0,5 ccm 1%iger Ninhydrinlösung zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit abs. Alkohol gelöst, auf ein bestimmtes Volumen gebracht und spektrophotometrisch untersucht.

Zu bemerken ist, daß schon auf colorimetrischem Wege beim Vergleich der Alkoholextrakte verschiedener Dialysate so deutliche Unterschiede zu beobachten sind, wie man sie nach der Kochprobe nicht erkennen kann. So zeigten die Sera von Graviden schon allein höhere Werte, als die normalen Sera allein; ferner bauten auch schon normale Sera aus der Placenta einen Teil ab. Viel deutlicher traten die Unterschiede durch die spektrophotometrischen Bestimmungen hervor. Die bisherigen Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Versuchsanordnung	Verarbeitete Menge des Dialysats ccm	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient	$-NH_2$. COOH Ges.-%	Berechnet für abgebaute $-NH_2$. COOH %	Bemerkungen
1. Serum (n) allein . . .	10	$\alpha_1 = 56^0\,30'$ $\alpha_2 = 34^0\,48'$	0,2372	5,15	—	
2. Placenta allein	10	$\alpha_1 = 43^0\,12'$ $\alpha_2 = 37^0\,36'$	0,0814	1,77	—	
3. Serum (n) + Placenta	10	$\alpha_1 = 57^0\,24'$ $\alpha_2 = 34^0\,42'$	0,8844	19,21	8,91	2,5 fach verdünnt
4. Serum (gr) allein . . .	10	$\alpha_1 = 57^0\,18'$ $\alpha_2 = 33^0\,6'$	0,3783	8,22	—	
5. Serum (gr) + Placenta	10	$\alpha_1 = 63^0$ $\alpha_2 = 28^0\,42'$	1,3863	30,13	13,69	2,5 „ „
6. Albumin a. Blut allein (Merck)	10	$\alpha_1 = 56^0\,12'$ $\alpha_2 = 25^0\,6'$	1,2590	27,36	—	2,5 fach verd. 0,2 g
7. Serum (n) + Albumin	10	$\alpha_1 = 68^0$ $\alpha_2 = 22^0\,30'$	1,8409	40,19	7,68	2,5 fach verdünnt
8. Serum (gr) + Albumin	10	$\alpha_1 = 71^0\,30'$ $\alpha_2 = 20^0\,24'$	2,2628	49,17	13,59	2,5 „ „
9. Fibrin allein (Merck) .	10	$\alpha_1 = 60^0\,12'$ $\alpha_2 = 30^0\,36'$	0,4702	10,21	—	0,2 g
10. Serum (n) allein . . .	10	$\alpha_1 = 58^0\,24'$ $\alpha_2 = 31^0\,18'$	0,4271	9,28	—	
11. Serum (n) + Fibrin .	10	$\alpha_1 = 64^0$ $\alpha_2 = 26^0\,36'$	1,5305	33,27	13,78	2,5 fach verdünnt
12. Serum (gr) allein . . .	10	$\alpha_1 = 59^0\,30'$ $\alpha_2 = 31^0\,36'$	0,4408	9,36	—	
13. Serum (gr) + Fibrin .	10	$\alpha_1 = 70^0$ $\alpha_2 = 20^0\,30'$	2,1655	47,06	27,49	2,5 „ „
14. Serum (gr) allein . . .	10	$\alpha_1 = 58^0\,48'$ $\alpha_2 = 30^0\,48'$	0,4425	9,62	—	
15. Serum (gr) + Fibrin .	10	$\alpha_1 = 74^0\,6'$ $\alpha_2 = 16^0\,18'$	3,6985	80,41	60,58	2,5 „ „
16. Placenta allein	5	$\alpha_1 = 49^0\,30'$ $\alpha_2 = 44^0\,48'$	0,1432	3,11	—	
17. Serum (gr) allein . . .	5	$\alpha_1 = 59^0\,16'$ $\alpha_2 = 34^0\,30'$	0,7752	16,85	—	
18. Serum (gr) + Placenta	5	$\alpha_1 = 65^0\,30'$ $\alpha_2 = 28^0\,36'$	3,0240	65,73	45,79	2,5 „ „
19. Serum (gr) allein . . .	5	$\alpha_1 = 57^0\,48'$ $\alpha_2 = 36^0\,12'$	0,6728	14,62	—	

Tabelle III (Fortsetzung).

Versuchsanordnung	Verarbeitete Menge des Dialysats ccm	Abgelesene Winkel	Extinktionskoeffizient	Ges.-% —NH_2.COOH	Berechnet für abgebaute % —NH_2.COOH	Bemerkungen
20. Serum (gr) + Placenta	5	$\alpha_1 = 64^0\,12'$ $\alpha_2 = 30^0$	2,7712	60,24	42,51	2,5 fach verdünnt
21. Placentapulver allein .	5	$\alpha_1 = 45^0\,30'$ $\alpha_2 = 40^0\,30'$	0,1520	3,30	—	
22. Serum (n) + Pulver .	5	$\alpha_1 = 55^0\,30'$ $\alpha_2 = 35^0$	1,5880	34,52	26,07	2,5 „ „
23. Serum (gr) + Pulver .	5	$\alpha_1 = 62^0\,30'$ $\alpha_2 = 26^0$	2,9772	64,72	44,57	2,5 „ „
24. Serum (gr) + Pulver .	5	$\alpha_1 = 60^0\,48'$ $\alpha_2 = 26^0\,30'$	2,7752	60,33	42,41	2,5 „ „
25. Serum (n) allein . . .	5	$\alpha_1 = 53^0$ $\alpha_2 = 37^0\,6'$	0,4884	10,62	—	
26. Serum (n) + Placenta	5	$\alpha_1 = 53^0\,12'$ $\alpha_2 = 37^0$	1,2448	27,49	13,66	2,5 „ „
27. Serum (n) + Pulver .	5	$\alpha_1 = 53^0\,48'$ $\alpha_2 = 35^0\,48'$	1,3872	30,15	16,23	2,5 „ „
28. Serum (n) allein . . .	5	$\alpha_1 = 54^0\,18'$ $\alpha_2 = 34^0\,36'$	0,6096	13,25	—	
29. Serum (n) + Placenta	5	$\alpha_1 = 49^0\,48'$ $\alpha_2 = 37^0\,12'$	0,9640	20,95	4,59	2,5 „ „
30. Serum (n) + Pulver .	5	$\alpha_1 = 51^0\,36'$ $\alpha_2 = 35^0\,48'$	1,2540	27,26	10,71	2,5 „ „

Die angegebenen Prozente für die —NH_2.COOH beziehen sich auf die aus den 20 ccm Dialysat stammenden, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe. Zieht man von den Gesamt-%-NH_2.COOH die dem Serum allein und der Placenta (Albumin, Fibrin) allein entsprechenden —NH_2.COOH-Prozente ab, so erhält man die abgebauten —NH_2.COOH-Prozente. n = normal, gr = gravid.

Um die Resultate übersichtlicher zu gestalten, mögen diese wie nebenstehend zusammengefaßt werden.

Wir ersehen aus dieser Zusammenstellung, daß die Menge der im Dialysate der Sera Gravider vorhandenen, mit Ninhydrin reagierenden Stoffe größer ist als die der normalen Sera. Ferner finden die Angaben, daß die Sera Gravider stärker abbauende

Faktoren enthalten als die normalen Sera, eine quantitative Bestätigung. Jedoch widersprechen diese Resultate einer Annahme der Spezifität der abbauenden Faktoren; vielmehr scheint aus diesen hervorzugehen, daß bei positiven und negativen Schwangerschaftsreaktionen es sich nicht um qualitative, sondern um quantitative Unterschiede handeln kann.

Versuch	Untersuchte Anzahl	Mittelwerte für vorhandene $-NH_2.COOH$ %	Mittelwerte für abgebaute $-NH_2.COOH$ %
Serum (n) allein	4	9,58	—
Serum (gr) allein	5	11,73	—
Serum (n) + Placenta	3	—	9,05
Serum (n) + Pulver	3	—	17,67
Serum (gr) + Placenta . . .	3	—	33,66
Serum (gr) + Pulver	2	—	43,49
Serum (n) + Albumin	1	—	7,68
Serum (gr) + Albumin	1	—	13,59
Serum (n) + Fibrin	1	—	13,78
Serum (gr) + Fibrin	2	—	44,03

Weitere Versuche in dieser Richtung sind im Gange.

Über die von den Respirationsbewegungen bedingten Schwankungen des Gaswechsels und Blutstroms in den Lungen des Menschen.

Von

A. Krogh und J. Lindhard.

(Aus dem zoophysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1913.)

Mit 5 Figuren im Text.

In einer an anderer Stelle publizierten Arbeit[1]) haben wir die Veränderungen beschrieben, die die Alveolarluft eines Menschen während der Exspiration und der Inspiration erleidet. Bezüglich der Methodik müssen wir auf die genannte Arbeit verweisen. Wir geben hier in Kurvenform die Resultate eines unserer Versuche. Während desselben arbeitete die Versuchsperson J. L. auf unserem Bicycle-Ergometer[2]) und ihr mittlerer Gaswechsel betrug 1830 ccm O_2 pro Minute.

Die obere Kurve zeigt quantitativ, und zwar sowohl mit Rücksicht auf Tiefe wie auf Zeit eine mittlere Exspiration und Inspiration. Die zwei unteren Kurven zeigen die entsprechenden Sauerstoff- und Kohlensäureprozente der Alveolarluft an. Diese Kurven sind aus den Analysen der zu den mit den vertikalen Strichen bezeichneten Zeiten entnommenen Proben konstruiert. In den meisten Versuchen haben wir direkt kontinuierliche Kurven durch die gewonnenen Punkte zeichnen können. In einigen weichen die graphisch ausgeglichenen Werte ein wenig (höchstens $0{,}1\,\%$) von den beobachteten ab. Wir wollen jetzt an der Hand der gegebenen Kurve zeigen, wie sich aus unseren Versuchen, die während

[1]) The Journ. of Physiology 74, 1914.

[2]) Skand. Arch. Physiol. 30, 375, 1913.

der Exspiration und Inspiration stattfindenden Änderungen des Lungengaswechsels berechnen lassen.

Die Residualluft der Versuchsperson ist unter den gegebenen Versuchsbedingungen bestimmt worden, und die alveoläre Residualluft ist als 1,33 l in Rechnung zu bringen[1]). Reserveluft und Inspirationsluft sind im Versuche selbst bestimmt worden und betragen 0,54 resp. 3,27 l. In den Lungenalveolen befinden sich somit zu Anfang der Exspiration 1,33 + 0,54 + 3,27 = 5,14 l Luft von der Zusammensetzung laut Kurve 3,59% CO_2, 15,51% O_2 und 80,90% N_2 oder 184,5 ccm CO_2, 797,5 ccm O_2 und 4158 ccm N_2. Vom Anfang der Exspiration bis zur ersten Probe wird nach der Respirationskurve ausgeatmet 0,72 l Luft und die Zusammensetzung der Alveolenluft ist dann 3,98% CO_2, 15,17% O_2, 80,85% N_2. Für die ausgeatmete Luftmenge wird eine mittlere Zusammensetzung: 3,78% CO_2, 15,34% O_2, 80,88% N_2 angenommen, und es wäre somit ausgeatmet 27,2 ccm CO_2, 111,5 ccm O_2 und 582 ccm N_2.

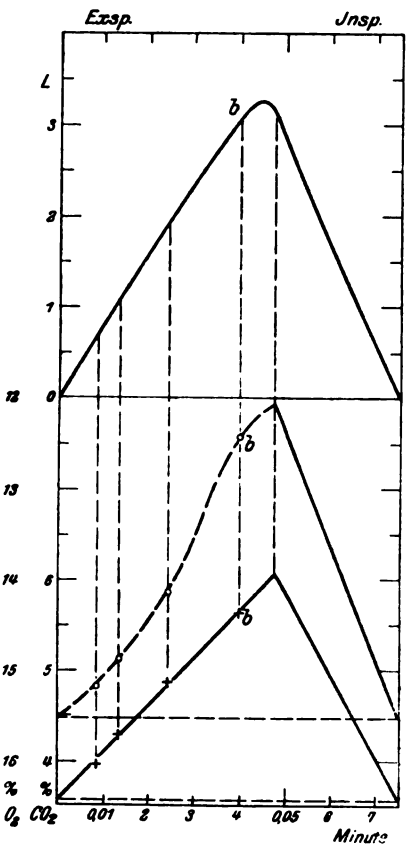


Fig. 1. Variationen der alveolären Kohlensäure +——+ und Sauerstoffspannung o---o während einer Exspiration und Inspiration.

Wenn sich der alveoläre Stickstoffprozentgehalt geändert hat (in diesem Falle von 80,90 auf 80,85), muß auch die totale Luft-

[1]) Dieses Luftvolumen und alle folgenden Luftvolumina sind nicht reduziert, sondern bei dem jeweiligen Temperatur- und Barometerstand, wie sie abgelesen wurden, angegeben. Eine Reduktion erschien für die hier behandelten Fragen zwecklos.

menge (Alveolarluft + ausgeatmete Luft) geändert sein, und die Rechnung wird dann unter Annahme einer konstanten Stickstoffmenge in folgender Weise durchgeführt. Die ausgeatmete Stickstoffmenge wird von der ursprünglichen abgezogen $4158 - 582 = 3576$ ccm. Diese Menge Stickstoff ist in den Lungen zurückgeblieben, und wenn der Stickstoffprozentgehalt jetzt 80,85 beträgt, läßt sich die Luftmenge als $\frac{3576 \cdot 100}{80{,}85} = 4424$ ccm berechnen. Die entsprechenden Kohlensäure- und Sauerstoffmengen sind dann 176,2 resp. 671,5 ccm. Addiert man die eingeatmeten und zurückgebliebenen Kohlensäuremengen und subtrahiert davon die ursprüngliche, so bekommt man die Kohlensäureausscheidung vom Anfang der Exspiration bis zur ersten Probe:

$$176{,}2 + 27{,}2 - 184{,}5 = 18{,}9 \text{ ccm}$$

und für die Sauerstoffabsorption in entsprechender Weise

$$797{,}5 - (111{,}5 + 671{,}5) = 14{,}5 \text{ ccm.}$$

Die Zeit, während welcher dieser Gaswechsel stattgefunden hat, beträgt 0,0089 Minute und pro Minute berechnet finden wir somit einen Gaswechsel von 2130 ccm CO_2 und 1630 ccm O_2. Der respiratorische Quotient während dieser Periode ist 1,30.

In ganz entsprechender Weise werden auch die folgenden Perioden bis zur Probe *b* berechnet (siehe Tabelle I, S. 266). Diese Probe entspricht dem Moment, wenn nur noch ein Volumen von 150 ccm, entsprechend dem „schädlichen Raume" der Versuchsperson[1]) und des Ventilapparates, ausgeatmet wird. Diese Luft kommt nicht über das Exspirationsventil hinaus und wird zu Anfang der Inspiration wieder eingeatmet. Erst nachdem dieses geschehen ist, wird eigentliche Inspirationsluft in die Alveolen hineindringen, und in diesem Augenblick haben wir die höchste Kohlensäurespannung sowie die niedrigste Sauerstoffspannung, die unter den gegebenen Bedingungen überhaupt vorkommen. Diese werden den Kurven entnommen und in Rechnung gebracht. Für die während dieser Periode aus- und wieder eingeatmeten 150 ccm wird die mittlere Zusammensetzung zwischen der letzten Probe und dem Maximum benutzt. Man findet wie zuvor die Stickstoffmenge in den Alveolen und

[1]) Der schädliche Raum ist unter Anwendung der Wasserstoffmethode (Journ. of Physiol. 47, 30, 1913) direkt bestimmt worden.

berechnet daraus die Luftmenge, die sich natürlich auch während dieser Periode verändern kann (Tabelle VII, Periode 4).

Schließlich werden auch die Änderungen während der Inspiration berücksichtigt. Hier kann aber die Berechnung in zwei verschiedenen Weisen durchgeführt werden, die nicht ganz dieselben Resultate geben. Erstens kann man wie zuvor annehmen, daß die totale Stickstoffmenge unverändert bleibt und beim Anfang jeder normalen Exspiration dieselbe ist. Man subtrahiert dann die zuletzt in den Lungen gefundene Stickstoffmenge von der Menge am Anfang der Exspiration $4158 - 1628 = 2530$ ccm (Tabelle VII, Periode Insp. A). Die Differenz wird mit dem durch Analyse der Inspirationsluft gefundenen Stickstoffprozentgehalt dividiert und gibt dann die inspirierte Luftmenge $\frac{2530 \cdot 100}{80{,}98} = 3123$ ccm. Diese Menge mit dem Sauerstoffprozentgehalt der Inspirationsluft multipliziert gibt dann die inspirierte Sauerstoffmenge 594,0 ccm. Der Kohlensäureprozentgehalt der Inspirationsluft ist in unserem Respirationsapparate immer gleich Null. Man findet dann die während der Inspiration aufgenommene Sauerstoffmenge und ausgeschiedene Kohlensäuremenge auf gleiche Weise wie in den übrigen Perioden. Die inspirierte Sauerstoffmenge wird zu der am Anfang der Inspiration vorhandenen addiert und davon die Menge am Ende der Inspiration (gleich der ursprünglichen Menge) subtrahiert. Im betrachteten Falle haben wir für den Sauerstoff

$$18{,}3 + 220{,}9 + 594{,}0 - 797{,}5 = 35{,}7 \text{ ccm } O_2$$

und für die Kohlensäure

$$184{,}5 - (8{,}8 + 111{,}0) = 64{,}7 \text{ ccm } CO_2.$$

Die auf diese Weise gewonnenen Werte nennen wir im folgenden A-Werte.

Wenn man aber die als inspiriert gefundene Luftmenge zu der unmittelbar vorher in den Lungen verhandenen addiert: $3123 + 1836 + 150 = 5109$ bekommt man eine Zahl, die nicht mit der zu Anfang der Exspiration vorhandenen Luftmenge (5140 ccm) ganz identisch ist[1]). Es wäre ebenso berechtigt, die

[1]) Die Differenz zwischen den beiden Berechnungsweisen rührt wahrscheinlich zum Teil davon her, daß es außerordentlich schwierig ist, in unserem Respirationsapparate die Zusammensetzung der Inspirationsluft genau konstant zu halten. Der Sauerstoff wird intermittierend bei jeder genügend tiefen Inspiration zugesetzt.

Luftmengen beim Anfang jeder normalen Exspiration als identisch anzunehmen. Man würde dann als inspirierte Luftmenge finden $5140 - (1836 + 150) = 3154$ ccm statt 3123 ccm und als inspirierte Sauerstoffmenge 600,0 ccm statt 594,0 ccm. Die Zahl für die während der Inspiration aufgenommene Sauerstoffmenge würde sich dementsprechend von 35,7 ccm auf 41,7 ccm ändern (B-Werte).

Die Genauigkeit der Resultate von Gaswechselversuchen dieser Art ist abhängig:

1. von den Alveolenluftanalysen und den daraus gebildeten Variationskurven,

2. von den Lungenvolumenbestimmungen und

3. von den Zeitbestimmungen.

1. Die Analysen sind ungefähr auf $0{,}02\,\%$ genau, und etwaige vereinzelte Fehler werden meistens bei der Kurvenzeichnung ausgeglichen. Für die von den Analysen umfaßten Kurvenstrecken können daher die Fehler nicht sehr groß sein: 1 bis höchsens 2 ccm, was aber doch 5 bis $20\,\%$ auf den Gaswechsel in der einzelnen Periode ausmacht.

Für den Anfang der Exspiration sowie für das Maximum sind aber die CO_2- und O_2-Prozente extrapoliert, und hier können natürlich größere Fehler entstehen. Die erste Extrapolation ist aber dadurch gesichert, daß, wie wir gefunden haben[1]), die aus den Kurven berechneten mittleren CO_2- und O_2-Prozente in der alveolären Exspirationsluft sehr gut mit den entsprechenden Ziffern aus einem vorhergegangenen Respirationsversuche übereinstimmen. Die zweite Extrapolation ist nicht in gleicher Weise gesichert. Die extrapolierte Strecke ist aber in jedem Falle kurz, und große Fehler sind daher wohl ausgeschlossen. Ein Fehler in dieser Extrapolation wird übrigens nur die Verteilung der Respirationswerte zwischen der Periode IV und der Inspiration (V) betreffen. Erstere wird sehr unsicher sein können, aber der Einfluß auf die Inspirstionswerte kann, der relativen Länge der Inspirationsperiode zufolge, nur geringfügig sein.

Eine Kontrolle des Gesamtresultats läßt sich daraus erheben, daß man die Summen der in allen Perioden ausgeschiedenen Kohlensäuremengen und aufgenommenen Sauerstoffmengen

[1]) Journ. of Physiol. 47, 1913.

bildet, pro Minute umrechnet und mit den Resultaten eines regulären, unmittelbar vorher angestellten Respirationsversuches vergleicht. Im oben besprochenen Falle haben wir:

	CO_2	O_2	
nach dem Respiratiosversuchen . .	1985	1976	ccm pro Min.
nach den Partialversuchen, A-Werte	1930	1970	„ „ „
B-Werte	1930	2050	„ „ „

Wie man sieht, stimmen die Resultate, besonders für die A-Werte, ganz gut, und dasselbe gilt auch bei den übrigen Versuchen.

2. Eventuelle Fehler der Lungenvolumenbestimmungen können nur einen ganz unbedeutenden Einfluß auf die Resultate haben. Die Fehler der Totalvolumenbestimmungen sind auf höchstens 100 ccm oder 2 bis 4% zu veranschlagen. Die Fehler der Bestimmungen der ausgeatmeten Luftmengen können höchstens 20 ccm ausmachen. Da die Differenz zwischen den Sauerstoff- und Kohlensäureprozenten der ausgeatmeten und der zurückgebliebenen Luft immer nur klein ist (höchstens 0,5%), können die entsprechenden Fehler höchstens 0,1 ccm oder weniger als 1% betragen.

3. In den Zeitdifferenzbestimmungen können Fehler von 0,002 Minute nicht ausgeschlossen werden. Da die Dauer der einzelnen Perioden bis auf 0,008 Min. absinken kann, können hierdurch Fehler bis 25% entstehen.

Dem Vorhergehenden zufolge muß man damit rechnen, daß speziell die Bestimmungen während der letzten Periode der Exspiration, die zum Teil auf Extrapolation beruhen und zugleich in mehreren Fällen sehr kurzdauernd sind, sehr ungenau (Fehler bis 50%) ausfallen können. In den übrigen Perioden sind die Fehler geringer und werden wohl selten 25% übersteigen.

Alle unsere Versuche sind an derselben Versuchsperson J. L. angestellt. Wir verfügen über 2 Versuche, in denen die Versuchsperson ruhig in einem Stuhl saß, 4 Versuche, in denen sie auf dem Bicycle-Ergometer arbeitete[1]), und endlich über ein paar spezielle Versuche, in denen sie, ohne zu arbeiten,

[1]) Diese Versuche sind dieselben, die in unserer englischen Arbeit für das Studium der Variationen der Gasspannungen in den Alveolen benutzt werden, und die näheren Details über die Respirationsverhältnisse sind dort angegeben.

auf dem Ergometer saß, und in welchen nur die Wirkungen einer einzigen tiefen Ausatmung untersucht wurden.

Wir wollen jetzt zuerst die direkt gewonnenen Resultate der Ruhe- und Arbeitsversuche in tabellarischer Form geben, dann diese Resultate zusammenstellen und besprechen und zur Stütze unserer Auffassung die speziell dafür angestellten Versuche heranziehen.

Die zwei Ruheversuche haben folgendes ergeben:

Tabelle I.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	4,8	15,8	79,4	4,14	199,0	654,0	3288							
Exsp.	5,01	15,67	79,32	0,44	22,0	69,0	348	16,6	8,5	0,0408	407	208	1,96	I
Alv.	5,22	15,54	79,24	3,710	193,6	576,5	2940							
Exsp.	5,41	15,21	79,38	0,62	33,5	94,3	492	12,4	24,2	0,0672	185	360	0,515	II
Alv.	5,60	14,88	79,52	3,080	172,5	458,0	2448							
								2,5	16,2	0,070	36	232	0,155	III
Alv.	5,70	14,42	79,88	3,066	175,0	441,8	2448							
Alv.[1])				3,116	177,1	449,8	2488							
Insp.	0,00	21,79	78,21	1,022	0,0	223,2	802	21,3	19,0	0,054	394	352	1,12	Insp.
								52,8	67,9	0,232	228	293	0,775	Summe
											228	294	0,775	Resp.-Versuch

Tabelle II.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	4,9	15,2	79,9	4,02	197,0	611,0	3214							
Exsp.	5,08	15,14	79,79	0,50	25,4	75,7	399	13,8	3,5	0,039	353	90	3,90	I
Alv.	5,25	15,07	79,68	3,529	185,4	531,8	2815							
Exsp.	5,32	14,94	79,74	0,44	23,4	65,8	351	4,3	9,0	0,053	81	170	0,48	II
Alv.	5,39	14,82	79,79	3,084	166,3	457,0	2464							
								8,7	24,3	0,087	43	280	0,155	III
Alv.[1])	5,54	14,10	80,36	3,068	170,0	432,7	2464							
Alv.				3,118	172,6	440,7	2504							
Insp.	0,00	21,28	78,72	0,902	0,0	191,9	710	24,4	21,6	0,050	488	432	1,13	Insp.
								46,2	58,4	0,229	202	254	0,80	Summe
											201			Resp.-Versuch

[1]) Die Berechnung ist hier in ein wenig vom Beispiel abweichender Weise durchgeführt.

Der Gesamtgaswechsel stimmt in beiden Versuchen ausgezeichnet mit dem aus dem eigentlichen Respirationsversuche berechneten überein. In den einzelnen Perioden weichen die Resultate etwas voneinander ab, und die Abweichungen sind zum Teil wenigstens zu groß, um als bloße Beobachtungsfehler angesehen werden zu dürfen. Da aber der allgemeine Charakter der Gaswechselvariationen in beiden Versuchen doch derselbe ist, haben wir es für berechtigt gehalten, das Mittel aus beiden Versuchen zu ziehen (Tabelle III). Wenn wir den Gesamtgaswechsel pro Minute und die mittlere Dauer einer Respirationsbewegung (Exspiration + Inspiration) als Einheiten nehmen, werden die Zahlen in der letzten Reihe erhalten.

Tabelle III.

Versuch	Periode I			Periode II			Periode III			Inspiration			Summe		
	Dauer	CO_2-Ausscheidung	O_2-Aufnahme	Dauer	CO_2-Ausscheidung	O_2-Aufnahme	Dauer	CO_2-Ausscheidung	O_2-Aufnahme	Dauer	CO_2-Ausscheidung	O_2-Aufnahme	Dauer	CO_2-Ausscheidung	O_2-Aufnahme
	Min.	ccm	ccm	Min.	ccm	ccm	Min.	ccm	ccm	Min.	ccm	ccm	Min.	ccm	ccm
1	0,0408	407	208	0,0672	185	360	0,070	36	232	0,054	394	352	0,232	228	293
2	0,0391	353	90	0,0530	81	170	0,087	43	280	0,050	488	432	0,229	202	254
Mittel	0,040	380	149	0,060	133	265	0,078	40	256	0,052	441	393	0,230	215	274
In Prozenten der Normalwerte	17,4	177	54	26,1	62	97	34,1	19	94	22,6	205	144	100	100	100

Figur 2 zeigt oben quantitativ die Respiration (in Liter) und unten die entsprechenden Variationen des CO_2- und O_2-Austausches. Die kontinuierlichen Kurven sind graphisch konstruiert und können natürlich nicht auf größere Genauigkeit Anspruch machen.

In Worten ausgedrückt haben diese Versuche folgendes ergeben: Die Kohlensäureausscheidung ist zu Anfang der Exspiration weit über den Mittelwert gestiegen. Sie nimmt dann zuerst rapid und darauf langsamer ab und wird in der exspiratorischen Pause sehr klein, vielleicht zuletzt gleich Null. Während der Inspiration steigt sie dann wieder sehr rasch an und erreicht Werte bis über das Doppelte der Norm. Die

Sauerstoffaufnahme zeigt zu Anfang der Exspiration eine negative Schwankung, hält sich dann bis zu Ende der exspiratorischen Pause beinahe konstant und normal und zeigt während der Inspiration eine sehr deutliche positive Schwankung. Dem ganz verschiedenen Verlaufe der CO_2- und O_2-Kurven ent-

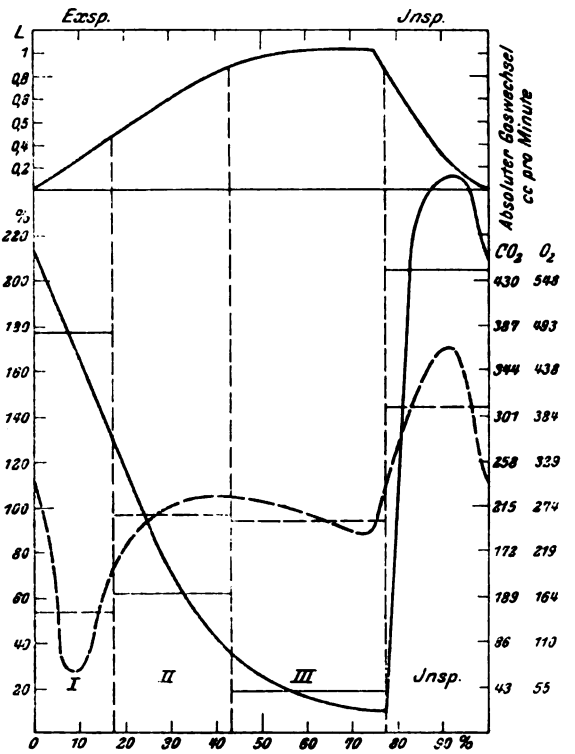


Fig. 2. Gaswechselvariationen während einer Respiration.
— Kohlensäureausscheidung.
— — Sauerstoffaufnahme.

sprechend ist natürlich der respiratorische Quotient während des Respirationszyklus außerordentlich großen Änderungen unterworfen: von 0,16 bis 2,5.

Die Resultate der Arbeitsversuche sind in den Tabellen IV bis VII verzeichnet.

Tabelle IV.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	4,42	17,32	78,26	4,49	198,5	777,8	3513							
Exsp.	4,60	17,14	78,26	0,41	18,9	71,5	321	15,9	14,3	0,0080	1990	1790	1,11	I
Alv.	4,79	16,96	78,25	4,08	195,5	692,0	3192							
Exsp.	5,10	16,55	78,35	0,83	42,4	137,5	650	22,1	31,2	0,0133	1660	2340	0,71	II
Alv.	5,40	16,14	78,46	3,242	175,2	523,3	2542							
Exsp.	5,67	15,71	78,62	0,81	45,9	127,3	637	14,7	25,4	0,0123	1190	2060	0,58	III
Alv.	5,94	15,29	78,77	2,422	144,0	370,6	1905							
Sch.-R.	6,13	14,95	78,92	0,150	9,2	22,4	118	8,2	17,6	0,0085	970	2070	0,47	IV
Alv.	6,32	14,60	79,08	2,264	143,0	330,6	1787							
Insp.	0,00	22,00	78,00	2,057	0,0	452,5	1608	46,3	27,7	0,0298	1550	930	1,67	Insp. A
				2,076		456,8		46,3	32,0	0,0298	1550	1070	1,45	Insp. B
								107,2	116,2	0,0719	1490	1620	0,92	Summe A
								107,2	120,5	0,0719	1490	1680	0,89	Summe B
											1522	1703	0,893	Resp.-Versuch

Tabelle V.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	4,26	17,22	78,52	4,50	191,8	775,3	3532							
Exsp.	4,43	17,06	78,51	0,43	19,0	73,4	338	14,6	14,2	0,0075	1950	1900	1,03	I
Alv.	4,60	16,89	78,51	4,07	187,4	687,7	3194							
Exsp.	4,85	16,55	78,60	0,75	26,4	124,2	590	17,5	26,9	0,0111	1580	2420	0,65	II
Alv.	5,09	16,21	78,70	3,309	168,5	536,6	2604							
Exsp.	5,44	15,68	78,88	1,07	58,2	167,8	844	18,8	31,6	0,0155	1210	2040	0,59	III
Alv.	5,80	15,15	79,05	2,226	129,1	337,2	1760							
Sch.-R.	5,95	14,91	79,14	0,15	8,9	22,4	119	6,2	10,6	0,0071	870	1490	0,58	IV
Alv.	6,10	14,68	79,22	2,071	126,4	304,2	1641							
Insp.	0,00	21,73	78,27	2,263	0,0	491,8	1772	56,5	43,1	0,0239	2360	1800	1,31	Insp. A
				2,279		495,0		56,5	46,3	0,0239	2360	1940	1,22	Insp. B
								113,6	126,4	0,0651	1747	1940	0,90	Summe A
								113,6	129,6	0,0651	1747	1990	0,875	Summe B
											1780	1960	0,906	Resp.-Versuch

Tabelle VI.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	4,30	14,75	80,95	4,88	210,0	719,7	3950							
Exsp.	4,64	14,36	81,00	0,95	44,1	136,5	770	29,0	35,2	0,0180	1610	1960	0,82	I
Alv.	4,97	13,98	81,05	3,921	194,9	548,0	3180							
Exsp.	5,24	13,61	81,15	0,76	39,8	103,5	616	18,5	26,7	0,0140	1320	1910	0,69	II
Alv.	5,50	13,24	81,26	3,156	173,6	417,8	2564							
Exsp.	5,75	12,84	81,41	0,81	46,6	104,0	659	13,2	23,1	0,0136	970	1700	0,57	III
Alv.	6,00	12,44	81,56	2,336	140,2	290,7	1905							
Sch.-R.	6,10	12,30	81,60	0,15	9,1	18,5	122	4,4	6,7	0,0054	820	1240	0,66	IV
Alv.	6,20	12,16	81,64	2,183	135,5	265,5	1783							
Insp.	0,00	18,97	81,03	2,522	0,0	478,5	2045	65,4	42,8	0,0325	2010	1320	1,53	Insp. A
				2,547		482,8		65,4	47,1	0,0325	2010	1450	1,39	Insp. B
								130,5	134,5	0,0835	1560	1610	0,97	Summe A
								130,5	138,8	0,0835	1560	1660	0,94	Summe B
											1608	1669	0,965	Resp.-Versuch

Tabelle VII.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.	3,59	15,51	80,90	5,14	184,5	797,5	4158							
Exsp.	3,78	15,34	80,88	0,72	27,2	111,5	582	18,9	14,5	0,0089	2130	1630	1,30	I
Alv.	3,98	15,17	80,85	4,424	176,2	671,5	3576							
Exsp.	4,13	15,02	80,85	0,38	15,7	57,1	307	12,5	13,1	0,0043	2910	3020	0,95	II
Alv.	4,28	14,87	80,85	4,044	173,0	601,3	3269							
Exsp.	4,57	14,50	80,93	0,82	37,5	119,0	663	21,0	27,3	0,0110	1910	2480	0,77	II
Alv.	4,86	14,13	81,01	3,220	156,5	455,0	2606							
Exsp.	5,25	13,28	81,47	1,20	63,0	159,5	978	18,5	48,8	0,0158	1170	3090	0,38	III
Alv.	5,64	12,42	81,94	1,986	112,0	246,7	1628							
Sch.-R.	5,84	12,22	81,94	0,15	8,8	18,3	123	7,8	7,5	0,0078	1000	960	(1,04)	IV
Alv.	6,04	12,03	81,93	1,836	111,0	220,9	1505							
Insp.	0,00	19,02	80,98	3,123	0,0	594,0	2530	64,7	35,7	0,0267	2420	1340	1,80	Insp. A
				3,154		600,0		64,7	41,7	0,0267	2420	1560	1,55	Insp. B
								143,4	146,9	0,0745	1930	1970	0,98	Summe A
								143,4	152,9	0,0745	1930	2050	0,94	Summe B
											1985	1976	1,00	Resp.-Versuch

Die folgende Zusammenstellung zeigt die Übereinstimmung zwischen den Summen der Partialgaswechselbestimmungen und

den Totalbestimmungen aus den normalen Respirationsversuchen.

		IV	V	VI	VII	
CO_2	A- u. B-Werte	1490	1747	1560	1930	
	Resp.-Versuch	1522	1780	1608	1985	
Differenz	%	— 2,2	— 1,9	— 3,0	— 2,8	Mittel — 2,5%
O_2	A-Werte . . .	1620	1940	1610	1970	
	Resp.-Versuch	1703	1960	1669	1976	
Differenz	%	— 4,8	— 1,0	— 3,5	— 0,3	Mittel — 2,4%
O_2	B-Werte . . .	1680	1990	1660	2050	
	Resp.-Versuch	1703	1960	1669	1976	
Differenz	%	— 1,35	+ 1,5	— 0,55	+ 3,75	Mittel + 0,8%

Die CO_2-Werte und die A-Werte für Sauerstoff zeigen genau dieselbe mittlere Abweichung vom Respirationsversuche mit Schwankungen, die in Betracht der Schwierigkeiten der Methodik als sehr klein angesehen werden müssen. Der respiratorische Quotient, aus diesen Werten abgeleitet, wird im Mittel der richtige, während die B-Werte einen zu niedrigen Respirationsquotienten geben müssen. Wir betrachten daher die A-Werte als die richtigeren und benutzen ausschließlich diese im folgenden.

Die gefundene mittlere Gaswechseldifferenz von 2,5% rührt wahrscheinlich zum größten Teil davon her, daß in den Partialbestimmungen während der Arbeit, die sich nur über zwei Respirationen erstreckte, ungefähr 30 bis 40 ccm Luft während jeder Exspiration als Proben entnommen worden sind. Diese Entnahme wird die scheinbare Größe der Exspiration mit 1 bis 2% vermindern, was in den Berechnungen nicht berücksichtigt ist.

Die Resultate der vier Versuche lassen sich, da ziemlich große Unterschiede mit Bezug auf Respirationsdauer und Gesamtgaswechsel bestehen, am bequemsten dadurch zusammenstellen, daß für jeden Versuch die Respirationsdauer und die normale Kohlensäureausscheidung, resp. Sauerstoffaufnahme als Einheiten genommen werden und die Partialbestimmungen als Prozente dieser Werte angegeben werden. Dies ist in der Tabelle VIII geschehen und die Mittelwerte sind daraus berechnet.

Tabelle VIII.

Versuch	Periode I			Periode II			Periode III			Periode IV			Insp.-Periode		
	Dauer %	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Dauer %	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Dauer %	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Dauer %	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Dauer %	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %
1 (IV)	11,1	134	111	18,5	111	145	17,1	80	128	11,8	65	129	41,5	105	58
2 (V)	11,5	111	98	17,0	90	125	23,8	69	105	10,9	50	77	36,6	135	93
4 (VI)	21,5	103	122	16,8	85	118	16,3	62	106	6,5	53	77	39,0	129	82
3 (VII)	12,0	111	83	20,5	114	134	21,2	61	157	10,5	52	49	35,9	126	68
Mittel	14,0	115	104	18,2	100	130	19,6	68	124	9,9	55	83	38,3	124	75

Die einzelnen Versuche stimmen so gut überein, wie man es erwarten kann. Es kommt in der schwierigen Periode IV eine Abweichung von 55% (IV 1) und eine andere von 41% (IV 4) vor. Sonst ist die größte Abweichung 27% (III 4) und die meisten sind weit unter 20%. Die Mittelzahlen müssen daher ein sehr getreues Bild von den tatsächlichen Veränderungen des Gaswechsels während des Respirationszyklus geben.

Wir finden, daß die Kohlensäureausscheidung prinzipiell denselben Verlauf hat wie in der Ruhe. Sie nimmt während der Exspiration stetig ab und ist sehr intensiv während der Inspiration. Doch sind die relativen Schwankungen weit geringer als in der Ruhe.

Die Sauerstoffaufnahme verhält sich durchaus verschieden. Sie nimmt zu Anfang der Exspiration zu (statt ab) und behauptet während des größeren Teiles der Exspiration einen ziemlich konstanten, hohen Wert. Sie nimmt dann am Ende der Exspiration stetig ab und ist in der Inspiration bedeutend unter die Norm gesunken (in der Ruhe erhöht). Die Resultate sind in Fig. 3 graphisch dargestellt.

Es ist von vornherein klar, daß die gefundenen, sehr großen Gaswechselschwankungen mit Schwankungen des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäureproduktion nichts zu tun haben. Sie müssen ausschließlich auf Variationen in den pulmonalen Gaswechselbedingungen zurückgeführt werden. Um diese Bedingungen zu erörtern, muß man sich zuerst daran erinnern, daß innerhalb kurzer Zeiträume die Sauerstoffaufnahme in den Lungen nahezu — wenn vielleicht auch nicht streng — der

Blutdurchströmung proportional ist. Dies rührt, wie schon Bohr hervorgehoben hat, davon her, daß normalerweise das venöse Blut unabhängig von der in den Lungen herrschenden Sauerstoffspannung (vorausgesetzt, daß diese nicht zu niedrig ist) mit Sauerstoff praktisch gesättigt wird. Wenn also die

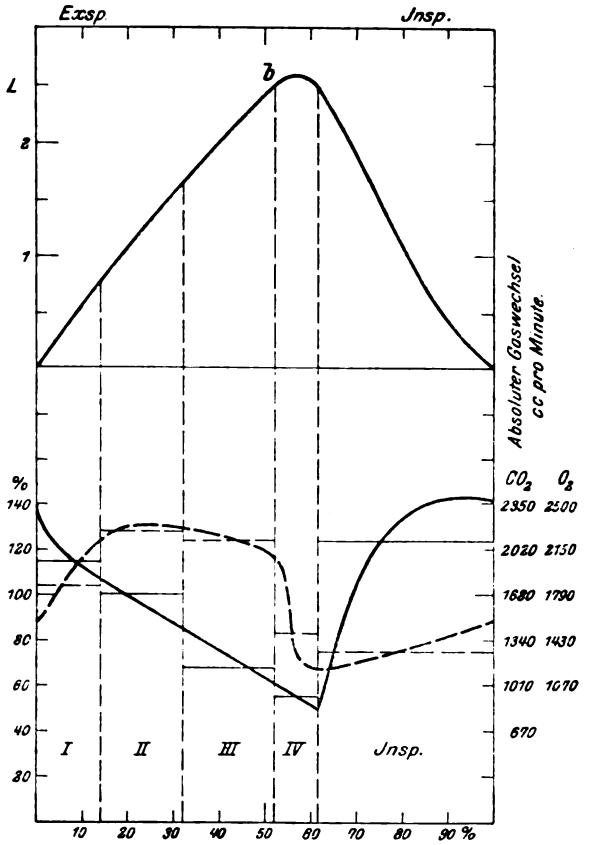


Fig. 8. Gaswechselvariationen während einer Respiration. Muskelarbeit.
— Kohlensäureausscheidung.
— — Sauerstoffaufnahme.

Sauerstoffmenge des venösen Blutes als konstant angesehen werden darf, muß die aufgenommene Menge der Blutmenge proportional sein. Nun ist es freilich möglich, daß zu verschiedenen Zeiten während der Respiration die Zusammen-

[1]) Nagels Handbuch 1, 175.

setzung des Blutes im rechten Herzen etwas verschieden sein kann (zu einer Zeit mehr Abdominalblut, zu anderer mehr Muskelblut), aber dank der venösen Reservoire, in denen die verschiedenen Blutsorten vermischt werden, können die Differenzen wahrscheinlich nur geringfügig sein.

Die Sauerstoffaufnahme gibt daher ein Maß für die Blutdurchströmung der Lungen oder, falls man es mit Änderungen in dem Blutgehalte der Lungencapillaren zu tun hat, richtiger gesagt für die Bluteinströmung in die Lungen.

In unseren Ruheversuchen ist die Blutversorgung, wie wir aus früheren Untersuchungen wissen[1]) inadäquat, das heißt, der Druck in den zentralen Venen ist zu gering, um die rechte Herzkammer bei der Diastole zu füllen. Das Schlagvolumen bleibt weit hinter der Kapazität der Herzkammer zurück. Unter solchen Umständen hängt der Blutstrom nahezu ausschließlich von der Blutversorgung zu den zentralen Venen ab und ist ganz unabhängig von etwaigen Widerstandsänderungen in den Lungen[1]). Unsere Versuche besagen daher, daß die Blutversorgung zu Anfang der Exspiration sehr bedeutend abnimmt und während der Inspiration die höchsten Werte erreicht.

Wir wissen nicht, ob in unseren Arbeitsversuchen die Blutversorgung eine adäquate gewesen ist. Da die Arbeit nicht besonders angestrengt war, war die Zirkulation jedenfalls nicht maximal, und es ist durchaus nicht ausgeschlossen, wenn auch nicht beweisbar, daß wir es auch hier mit Variationen in der Blutversorgung zu tun haben. Falls die Blutversorgung adäquat gewesen ist, muß die Stromzunahme während der Exspiration entweder auf Frequenzzunahme des Herzens oder auf Widerstandsverminderung bezogen werden, und man könnte dann an eine pulmonale Gefäßerweiterung im Sinne Cloettas denken[2]).

[1]) Skand. Arch. Physiol. 27, 124, 127 bis 131, 1912.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 66, 1911. Wir möchten ausdrücklich betonen, daß wir die Beweisführung Cloettas für seine Ansichten, die auf eine größere Durchblutung und größere Blutfülle der kollabierten, im Vergleich mit der aufgeblähten, Lunge hinausgehen, für ganz ungenügend halten. Seine Daten würden aller Wahrscheinlichkeit nach interessante Aufschlüsse geben können, wenn sie nur quantitativ wären.

Es ist sehr zu bedauern, daß heute noch, wo alles zielbewußte Streben in der mechanischen und chemischen Physiologie auf Exaktheit

Wir glauben aber, daß die Resultate anders zu deuten sind und können jedenfalls zeigen, daß man auch in der Ruhe, bei sicher inadäquater Blutversorgung, einen während der Exspiration vermehrten Blutstrom hervorbringen kann. Dies geschieht nämlich prompt bei tieferer Ausatmung.

Wir haben in dieser Beziehung einige Versuche angestellt, und zwar sowohl indem wir eine gewöhnliche Ausatmung im selben Tempo fortsetzen ließen, wie auch indem wir eine tiefe Einatmung machten und dann nachher eine langsame Ausatmung bis zur Residualluft. Die Kurven Fig. 4 und 5 zeigen typische Beispiele. Die Resultate der entsprechenden Bestimmungen sind in den Tabellen IX und X angeführt.

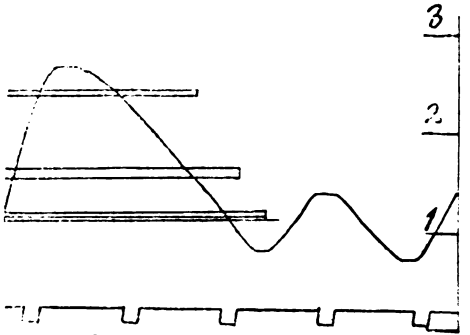


Fig. 4. Quantitative Respirationskurve. Von rechts nach links aufgenommen. Exspiration nach oben. Zeitmarken 0,1 Minuten. Proben der Alveolarluft sind automatisch an den mit den horizontalen Strichen bezeichneten Stellen genommen und außerdem am Schluß der tiefen Exspiration.

Tabelle IX.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.				3,98										
Exp.				0,27										I
Alv.	5,55	13,21	81,24	3,71	206,0	490,3	3015							
Exp.	5,65	13,09	81,26	0,41	23,2	53,6	335	6,7	8,7	0,0318	213	277	0,77	II
Alv.	5,74	12,97	81,29	3,30	189,5	428,0	2680							
Exp.	6,00	12,28	81,72	0,82	49,2	100,7	670	13,2	43,0	0,0745	177	578	0,31	III
Alv.	6,25	11,58	82,17	2,454	153,5	284,3	2010							
Exp.	6,32	11,27	82,41	0,21	13,3	23,7	173	2,1	16,2	0,0215	66	510	0,13	IV
Alv.	6,38	10,96	82,66	2,23	142,3	244,4	1837							

hinausgeht, einige Verfasser es für angemessen halten, Blutdruckkurven, Volumenschwankungskurven der Lungen usw. als bloße Illustrationen zu geben, ohne eine quantitative Verwertung vorzunehmen oder bloß zu ermöglichen.

Tabelle X.

	Zusammensetzung d. Alv.- u. Exsp.-Luft			Luftvolumen	Gasmengen			Gaswechsel		Zeit	Gaswechsel pro Min.		R. Q.	Periode
	CO_2 %	O_2 %	N_2 %	l	CO_2 ccm	O_2 ccm	N_2 ccm	CO_2 ccm	O_2 ccm	Min.	CO_2 ccm	O_2 ccm		
Alv.				5,36										
Exp.				0,53										I
Alv.	3,85	16,39	79,76	4,83	186,0	791,8	3850							
Exp.	4,07	16,17	79,76	0,81	33,0	131,0	646	19,9	19,8	0,0236	844	840	1,00	II
Alv.	4,30	15,95	79,75	4,02	172,9	641,0	3204							
Exp.	4,55	13,70	79,75	1,18	53,7	185,2	941	17,1	17,1	0,0354	478	478	1,00	III
Alv.	4,80	15,45	79,75	2,84	136,3	438,7	2263							
Exp.	4,91	15,28	79,81	1,36	66,8	208,0	1085	4,5	7,8	0,0455	99	172	0,58	IV
Alv.	5,02	15,11	79,87	1,475	74,0	222,9	1178							

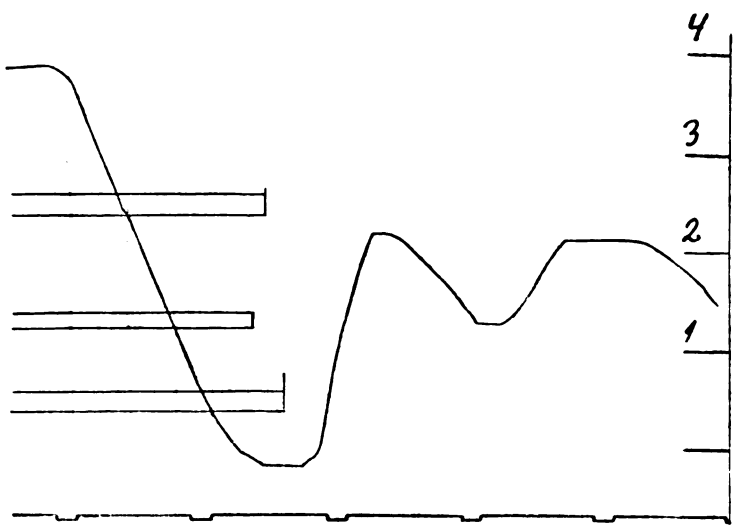


Fig. 5. Ausatmung nach tiefster Einatmung.

Wenn eine gewöhnliche Ausatmung fortgesetzt wird, steigt die Sauerstoffaufnahme an und erreicht fast den doppelten Normalwert. In der Ausatmung nach tiefer Einatmung ist die Sauerstoffaufnahme sogleich sehr stark erhöht (in der ersten untersuchten Periode verdreifacht) und sinkt dann wieder ab[1]).

[1]) Wenn die Exspiration sich der Residualluft nähert, finden wir eine bedeutende Abnahme der Sauerstoffabsorption. Wir werden auf diese Beobachtung, die nur noch einmal gemacht ist, vorläufig nicht näher eingehen.

Wenn wir jetzt unsere Resultate in betreff der Sauerstoffaufnahme oder des Blutstroms im Zusammenhang überblicken, lassen sich dieselben ungezwungen unter einen einheitlichen Gesichtspunkt bringen, und zwar auf Variationen der Blutversorgung zum rechten Herzen zurückführen. Unsere Resultate decken sich qualitativ genau mit denen, die Lewis[1]) bei seinen schönen Untersuchungen über die respiratorischen Variationen des Blutdruckes gefunden hat, und geben eigentlich nur für unsere Versuchsperson die quantitative Ausgestaltung seiner Konklusionen.

Wir finden wie Lewis, daß der Respirationstypus maßgebend für die Wirkung auf den Kreislauf ist. Bei vorwiegend diaphragmatischer Atmung, wie es J. L. in der Ruhe hat, nimmt der arterielle Blutdruck (Lewis) und der Blutstrom durch die Lungen während der Inspiration zu, während der Exspiration ab. Eine tiefe costale Inspiration, sei sie willkürlich oder von der Arbeitspolypnoe bedingt, setzt den Blutstrom durch die Lungen herab, und er wird dann während der darauffolgenden Exspiration erhöht.

Die Ursache der verschiedenen Reaktionen beim costalen und abdominalen Respirationstypus ist nach Lewis hauptsächlich im verschiedenen Verhalten des Abdominaldruckes zu suchen, und wir sind ganz zu demselben Resultate gelangt: Bei einer diaphragmatischen Inspiration wird der Abdominaldruck, wie Lewis und andere gefunden haben, erhöht. Das Blut wird daher aus der unteren Hohlvene in das rechte Herz befördert, man bekommt einen vermehrten Blutstrom durch die Lungen und, ein wenig später, in den Körperarterien. Bei costaler Inspiration werden Bauch- und Brusthöhle zu gleicher Zeit erweitert, und man bekommt negativen Druck in der Bauchhöhle. Das Blut wird zwar aspiriert, aber größtenteils in der unteren Hohlvene aufgehoben und dann erst während der Exspiration, wenn der Abdominaldruck den Thoraxdruck um so viel übersteigt, als die Höhendifferenz ausmacht, in das rechte Herz ergossen.

Das Bild unserer Kohlensäureresultate ist ein ganz einheitliches. Man sieht während der Exspiration in allen Ver-

[1]) Journ. of Physiol. 37, 233, 1908.

suchen die Kohlensäureabgabe stark absinken, um zuweilen sehr kleine Werte zu erreichen. Dies hängt natürlich mit der steigenden Kohlensäurespannung in den Alveolen zusammen. Die Kohlensäureabgabe ist von der Differenz zwischen der CO_2-Spannung des Venenblutes und der der Alveolenluft abhängig. Diese Differenz ist immer klein, und die exspiratorische Abnahme kann daher einen sehr großen Einfluß haben.

Die Abhängigkeit der Kohlensäureabgabe vom Blutstrom wird vom Einfluß der Spannungsänderungen zum größten Teil verdeckt, läßt sich aber doch an der Hand des Materials demonstrieren. Vergleicht man z. B. in den Arbeitsversuchen die Kohlensäure- und Sauerstoffzahlen innerhalb jeder Periode, so findet man, daß die höheren CO_2-Zahlen beinahe immer auch höheren Sauerstoffzahlen entsprechen. In der folgenden kleinen Tabelle sind die Zahlen aus der Tabelle VIII in solcher Weise zusammengestellt, daß für jede Periode die Mittelwerte aus den zwei höheren Sauerstoffzahlen und den zugehörigen Kohlensäurezahlen aufgeführt und dem entsprechenden Mittel der niedrigeren O_2-Zahlen und zugehörigen CO_2-Zahlen gegenübergestellt sind.

Tabelle XI.

	Periode I			Periode II			Periode III			Periode IV			Insp.-Periode		
	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Mittel aus Versuchen	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Mittel aus Versuchen	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Mittel aus Versuchen	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Mittel aus Versuchen	CO_2-Ausscheidung %	O_2-Aufnahme %	Mittel aus Versuchen
a	118	116	(1 u. 3)	112	140	(1 u. 4)	70	142	(1 u. 4)	58	102	(1 u. 2)	132	87	(2 u. 3)
b	111	90	(2 u. 4)	87	122	(2 u. 3)	65	105	(2 u. 3)	52	63	(3 u. 4)	115	63	(1 u. 4)
$\frac{a}{b}$	1,07	1,29		1,29	1,15		1,08	1,35		1,11	1,62		1,15	1,38	

Man sieht, daß überall den höheren O_2-Zahlen auch die höheren CO_2-Zahlen entsprechen. Der prozentische Unterschied zwischen den Sauerstoffzahlen ist aber, wie die dritte Linie zeigt, durchweg größer als der Unterschied der Kohlensäurezahlen, und wenn diese Resultate berechnet werden, findet man, daß eine Zunahme der Sauerstoffabsorption (oder des Blutstroms) von 36% eine Zunahme der Kohlensäureausscheidung von 14% bedingt; oder 1% Zunahme des Blutstroms gibt im Mittel 0,4%

Zunahme der Kohlensäureausscheidung. Diese Bestimmung ist natürlich nicht sehr genau, und das Verhältnis zwischen Blutstrom und CO_2-Ausscheidung muß notwendigerweise ein sehr schwankendes sein.

Es ist sehr bemerkenswert, daß wir in allen Versuchen gefunden haben, daß die CO_2-Ausscheidung während der Inspiration relativ sehr hoch ist. In der Ruhe 105%, in den Arbeitsversuchen im Mittel 24% über der Norm. Dies mag beim ersten Blick befremden, weil doch die mittlere alveoläre CO_2-Spannung während der Inspiration ungefähr dieselbe wie während der Exspiration sein muß, und der Blutstrom in der Ruhe zwar inspiratorisch vermehrt ist, in der Arbeit aber vermindert. Es ist aber eine notwendige Konsequenz des Kohlensäureabsorptionsvermögens des Lungengewebes, daß dem so sein muß.

Während der Exspiration steigt die alveoläre CO_2-Spannung, in der Ruhe durchschnittlich um 0,8% und während der Arbeit um 2%. Die Lungen wiegen ungefähr 1 kg[1]) exklusive Blut. Der Absorptionskoeffizient des Lungengewebes für CO_2 ist nicht bekannt, muß aber aller Wahrscheinlichkeit nach zwischen 0,5 und 1 liegen[2]). Wir wollen ihn als 0,75 in Rechnung stellen. In der Ruhe muß dann die absorbierte Menge Kohlensäure während der Exspiration um 6 ccm CO_2 zunehmen und während der Inspiration um denselben Betrag abnehmen. Die entsprechende Zahl für die Arbeit ist 15 ccm. Wenn die während der Inspiration faktisch gefundenen Kohlensäureausscheidungen entsprechend korrigiert werden, wird in der Ruhe als vom Blut ausgeschieden gefunden 150% der Norm (statt 205% von Blut und Lungengewebe) bei einem Blutstrom von 144% der Norm, und während der Arbeit 92% (statt 124%) bei einem Blutstrom von 75%. Die Verteilung der Kohlensäureausscheidung aus dem Blute selbst zwischen Inspiration und Exspiration entspricht somit ziemlich genau den Blutstromschwankungen.

[1]) Vierordt, Tabellen. 3. Aufl. 1906, S. 34.

[2]) Bestimmungen von Zuntz und Loewy, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1904, 204, haben Werte zwischen 120 und 200% des Absorptionskoeffizienten des Wassers ergeben. Wir haben gefunden (Skand. Arch. f. Physiol. 27, 114, 1912), daß der Absorptionskoeffizient des Lungengewebes für Wasserstoff ein hoher sein muß. Zuntz, Müller und Markoff (Zeitschr. f. Balneologie 1911) haben den Absorptionskoeffizienten des Lungengewebes für N_2O zu 0,59 bestimmt, während der des Blutes nur 0,43 beträgt.

Zusammenfassung.

Der Lungengaswechsel ist sehr großen respiratorischen Schwankungen unterworfen.

Die Sauerstoffaufnahme, die dem Blutstrom nahezu proportional sein muß, ist bei vorwiegend diaphragmatischer Atmung während der Inspiration erhöht (bis 40%), während der Exspiration dagegen vermindert. Bei costaler Respiration ist sie dagegen während der Exspiration erhöht. Der maßgebende Faktor ist hierbei die abdominale Druckschwankung.

Die Kohlensäureausscheidung nimmt während der Exspiration stetig und stark ab, was eine Folge der steigenden Kohlensäurespannung in den Alveolen ist.

Die Kohlensäureausscheidung nimmt bei vermehrtem Blutstrom zu, aber in geringerem Maße (0,4 : 1).

Die Kohlensäureausscheidung ist intensiver während der Inspiration, als während der Exspiration, was davon herrührt, daß während der Exspiration Kohlensäure in dem Lungengewebe, dem steigenden Kohlensäuredrucke entsprechend, aufgespeichert wird. Diese Kohlensäure wird dann während der Inspiration wieder abgegeben.

Zur Wirkung von Eidotteremulsionen auf den tierischen Organismus.

Von

E. Hanschmidt.

[Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Jurjew (Dorpat)].

(Eingegangen am 19. Dezember 1913.)

Die aus dem Eidotter hergestellten Lecithine können, sofern es sich um ein chemisch reines Präparat handelt, dem tierischen Organismus in relativ großen Dosen zugeführt werden.

Aus den Versuchen von D. M. Lawrow[1]) geht hervor, daß die Lecithine intraperitoneal selbst in Dosen von 6 g und intravenös in Dosen von 2,5 g pro 1 kg des Tieres gut vertragen werden; die Injektionen waren mit keinerlei Gefahren für den Organismus verbunden. Desgleichen ergaben Versuche am Ludwigschen Kymographion, daß den Lecithinen auch bei Anwendung großer Dosen eine schädliche Wirkung auf das Herz und Gefäßsystem nicht zukommt.

Meine Lecithinversuche ergaben mit obigen völlig übereinstimmende Resultate; die Injektion größerer Lecithinmengen kann auf intravenösem, intraperitonealem und subcutanem Wege erfolgen[2]).

Es erschien mir nun von großem praktischen Interesse, zu prüfen, wie sich die Muttersubstanz dieser Verbindung — der Hühnereidotter — bei der Einführung in den tierischen Organismus verhält. In der Literatur lassen sich darüber nur ungenügende Angaben finden.

C. Fermi[3]) hat eine 5 %ige mit Karbolsäure versetzte Hühnereidotter-Emulsion bei experimentellen Injektionen an-

[1]) D. M. Lawrow, Charkower med. Journal 1912.

[2]) E. Hanschmidt, diese Zeitschr. 51, 3, 171.

[3]) C. Fermi, Centralbl. f. Bakt. 48, 3, 357.

gewandt. Von den mit Straßenvirus subcutan infizierten Mäusen, denen 15 Tage hindurch täglich 2 Einspritzungen zu je $^1/_4$ bis $^1/_2$ ccm gemacht wurden, konnten bis 75 % gerettet werden, während die Kontrollmäuse sämtlich eingingen.

A. Bogomolez[1]) hat beobachtet, daß Meerschweinchen, die mit einer Eigelb-Emulsion auf intraperitonealem Wege sensibilisiert wurden, auf die nach 16 Tagen folgende Injektion mit typischen anaphylaktischen Erscheinungen reagierten. Wurde dagegen zur zweiten Einspritzung nicht Eigelb, sondern die aus ihm extrahierten Lipoide verwandt, so war die Reaktion bedeutend geringer oder sie fehlte ganz. Augenscheinlich kann die Wirkung von solchen Emulsionen nicht ausschließlich auf den Gehalt derselben an Lecithinen zurückgeführt werden.

Der besseren Übersicht wegen sei hier in Kürze auf die hauptsächlichsten im Hühnereidotter befindlichen Bestandteile hingewiesen. Das Eigelb bildet eine undurchsichtige, gelbliche, dickflüssige Masse von alkalischer Reaktion; zu den Bestandteilen derselben gehören außer Wasser: Eiweißsubstanzen — das Vitellin u. a., Lipoide, d. h. Lecithine, Cholesterine, Fette und Luteine, Mineralsalze. Henriques und Hansen[2]) haben auf die äußerst interessanten Verhältnisse zwischen den Fetten des Eidotters und den Fetten der Nahrung hingewiesen. Desgleichen steht auch der Gehalt an mineralischen Bestandteilen in engem Zusammenhange mit dem Futter. So kann beispielsweise der Eisengehalt des Eidotters durch eisenreicheres Futter beträchtlich erhöht werden[3]). Auch Fermente sind im Eidotter nachgewiesen worden, und zwar ein diastatisches, glykolytisches, proteolytisches und lipolytisches Enzym[4]). Das Gewicht eines Hühnereidotters schwankt zwischen 12 und 18 g.

Experimenteller Teil.

Zu den im folgenden beschriebenen Versuchen diente einerseits eine 10 %ige Eidotter-Emulsion (Versuchsreihe A), anderer-

[1]) A. Bogomolez, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Ther. **5**, 1, 121.

[2]) V. Henriques u. C. Hansen, Über den Übergang des Nahrungsfettes in das Hühnerei und über die Fettsäuren des Lecithins. Skand. Arch. f. Physiol. **14**, 390.

[3]) Hartung, Zeitschr. f. Biol. **43**.

[4]) C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1913.

seits die aus dem Eidotter isolierten Bestandteile. Das zur Herstellung der Emulsion berechnete Eigelb wurde im Mörser verrieben und mit 0,9 % NaCl-Lösung verdünnt. Vor der Injektion wurde die Emulsion im Kolben auf dem Dampfbade unter ständigem Schütteln auf 60 bis 70° bis zur Koagulation der Eiweißstoffe erhitzt, mehrmals durch Marly filtriert und 10 bis 15 Minuten hindurch bei 100° sterilisiert. Durch Extraktion mittels Alkohol und Äther können die Lipoide des Dotters (Lecithine, Cholesterine, Fette, Farbstoffe) mehr oder weniger vollständig von den Eiweißstoffen getrennt werden. Die Isolierung dieser Substanzen geschah wie folgt: Das vom Eiweiß getrennte Eigelb wurde mit Alkohol vermischt und bei 60 bis 70° auf dem Dampfbade 6 Stunden hindurch extrahiert. Der Alkohol wurde auf der Nutsche abgesaugt, die koagulierten Eiweißstoffe des Dotters mehrere Wochen hindurch mit Schwefeläther extrahiert. Der Alkohol und Äther wurde abdestilliert, die nachbleibenden Extrakte wurden vereinigt und im Dampfbade eingedickt. Die aus dem Eidotter gewonnenen Lipoide stellten eine rötlichgelbe Masse von Honigkonsistenz dar; aus den Lipoiden einer bestimmten Zahl von Eidottern wurde eine ätherische Lösung angefertigt. Zur Anwendung gelangte eine 5 bis 10 %ige Emulsion mit 0,9 % Kochsalzlösung.

Die Zubereitung erfolgte in der Weise, daß ein bestimmtes Quantum der ätherischen Lösung im Porzellanschälchen verdampft wurde; der Rückstand wurde mit physiologischer Kochsalzlösung im Mörser verrieben und auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Die Emulsion der Lipoide wurde stets ex tempore bereitet, mehrmals durch hygroskopische Watte filtriert und im Dampfbade bei 100° 15 bis 20 Minuten hindurch sterilisiert.

Die neben den Lipoiden isolierten koagulierten Eiweißsubstanzen des Dotters (Vitellin u. a.) wurden durch leichtes Erwärmen getrocknet und pulverisiert; mittels 0,9 %iger NaCl-Lösung wurde eine 10 %ige Suspension bereitet, die in sterilisiertem Zustande zur Injektion verwandt wurde. Aus jedem Eigelb wurden im Mittel 6 g Lipoide und 4 g Eiweißstoffe gewonnen. Das von den Dottern getrennte Eier-Eiweiß wurde gleichfalls zu Versuchen angewandt; auf jedes Ei entfielen ca. 20 ccm flüssiges Eiweiß. Das Gewicht eines Hühnereidotters wurde im Durchschnitt mit 15 g berechnet. Diese Verhältnisse wurden

bei den im nachstehenden beschriebenen Versuchen in Betracht gezogen; zu letzteren dienten Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde und Katzen. Die Injektion erfolgte in die Peritonealhöhle, doch wurden in einigen Fällen die Lipoide intravenös eingespritzt, außerdem wurden mit den Lipoiden Versuche am Ludwigschen Kymographion ausgeführt.

Der Kürze wegen verzichte ich auf eine Wiedergabe aller Versuchs- und Sektionsprotokolle und führe nur einige Beispiele in extenso an. Eine Zusammenstellung der ausgeführten Versuche ist aus den einzelnen Tabellen zu ersehen.

A. Versuche mit koaguliertem Eidotter.

(In den nachstehenden Versuchen wurden Emulsionen aus ganzem Eidotter eingeführt.)

Versuch 1.

12. I. 1913. Ein Kaninchen von 1850 g erhielt 150 ccm einer 10%igen sterilisierten Eigelb-Emulsion (gleich 1 Eidotter) intraperitoneal injiziert. Etwa 10 bis 12 Stunden nach der Einspritzung wurde das Tier unruhig, die Atmung frequent, die Muskulatur schlaff; 28 Stunden nach der Injektion erfolgte der Tod.

Sektion. Gewicht der Leiche 1830 g. In der Peritonealhöhle wurden nur Reste der eingeführten Emulsion vorgefunden. Auf der Serosa der Darmwand und auf dem parietalen Blatt des Bauchfells fanden sich Auflagerungen von geronnenem Eidotter. Nach Ablösen dieser Membranen fand sich starke Injektion der capillaren Gefäße, resp. kleine punktförmige Blutergüsse. Die Mesenterialgefäße waren stark injiziert; Milz und retroperitoneale Lymphdrüsen nicht vergrößert. Herzstillstand in Diastole, Lungen asphyktisch. Bei der mikroskopischen Untersuchung von aus der Bauchhöhle entnommenen Resten der Emulsion und in den abgelösten Auflagerungen fanden sich massenhafte Ansammlungen von Leukocyten.

Versuch 4.

12. I. 1913. Ein Meerschweinchen von 700 g erhielt 50 ccm einer 10%igen Eidotteremulsion (gleich $^1/_8$ Eidotter) intraperitoneal injiziert. Nach der Einspritzung zunächst keine Erscheinungen, nach ca. 12 Stunden wurde das Tier matt, verweigerte die Nahrung; weiterhin stellte sich Dyspnoe ein, nach 27 Stunden erfolgte der Tod.

Sektion. Gewicht der Leiche 720 g. In der Peritonealhöhle fanden sich nur Spuren der Emulsion. Auf dem parietalen Blatt des Bauchfells und auf der Serosa des Darmtraktus zahlreiche punktförmige Blutergüsse sowie Auflagerungen von geronnenem Eigelb. Diastolischer Herzstillstand. Bei der mikroskopischen Untersuchung fand sich in der Peritonealhöhle eine starke Emigration von Leukocyten.

Eine Zusammenstellung der übrigen mit Eidotter ausgeführten Versuche ist aus der Tabelle I zu ersehen.

Tabelle I.

Injektion von koaguliertem Eidotter.

Versuchs-Nr.	Tiere	Gewicht der Tiere g	Quantum der injizierten Eidotter auf 1 kg Körpergewicht der Tiere g	Das eingeführte Quantum entspricht Eidottern	Resultat des Versuchs
2	Kaninchen	2060	10,5	$1^1/_2$	Tod
1	Kaninchen	1850	8,0	1	„
3	Meerschweinchen	830	6,0	$^1/_2$	„
4	Meerschweinchen	700	7,0	$^1/_3$	„
5	Meerschweinchen	600	6,0	$^1/_4$	„
6	Meerschweinchen	520	5,0	$^1/_6$	„

Aus den angeführten Experimenten geht hervor, daß die Versuchstiere (Kaninchen und Meerschweinchen) infolge der intraperitoneal injizierten Eidotter-Emulsionen in ca. 24 bis 30 Stunden eingehen. Bei der Sektion erwies es sich, daß nur ein geringer Teil der eingeführten Emulsion in der Peritonealhöhle vorgefunden wurde. Dieser Umstand wies darauf hin, daß die injizierte Emulsion zum größten Teil resorbiert worden war. Auf den serösen Häuten fanden sich als regelmäßige Erscheinung Auflagerungen von geronnenem Eigelb, sowie punktförmige Blutergüsse. Da nun die injizierte Emulsion, als aus koagulierten Eidotterpartikeln bestehend, wohl kaum an und für sich einer Resorption fähig ist, so können als Todesursache mindestens folgende drei Annahmen in Betracht gezogen werden.

1. Die in die Peritonealhöhle eingeführte Emulsion wird chemischen fermentativen Veränderungen unterworfen; das in ihr enthaltene Eiweiß wird hydrolytisch gespalten und resorbiert. Der Tod der Tiere erfolgt durch Verdauungsprodukte der Eiweißsubstanzen des Dotters. Falls diese Annahme zulässig ist, so wäre die Gegenwart eines Fermentes, welches das koagulierte Eigelb in zur Resorption lösliche Verbindungen überführt, erforderlich; denn das in Eidotter selbst nachgewiesene proteolytische Ferment ist durch das Sterilisieren der Emulsion bei 100° C unwirksam geworden.

2. Die Resorption der Emulsion per se erfolgt durch die in ihr enthaltenen Lipoide resp. Lecithine. Diese verbinden

sich bei der Resorption aus der Bauchhöhle mechanisch mit den in der Emulsion enthaltenen Eiweißpartikeln und führen sie mit sich fort, indem sie letztere vielleicht in Gestalt einer Lipoidmembran umgeben. Der Tod der Tiere erfolgt durch Verstopfung der Gefäße (Embolien, Thrombosen). Daß die Lipoide resp. Lecithine tatsächlich schnell aus der Peritonealhöhle resorbiert werden, geht aus den äußerst exakten Untersuchungen von D. M. Lawrow (l. c.) hervor. Nach diesen Versuchen können die Lecithine aus der Peritonealhöhle in ca. 24 Stunden bis zu 5 g auf 1 kg des Tieres resorbiert werden.

3. Da die Injektion von Eidotter-Emulsionen mit einer starken Emigration von Leukocyten in die Peritonealhöhle verbunden ist, so wäre auch die Annahme möglich, daß die ausgewanderten Leukocyten sich mit den Lipoiden und Eiweißpartikeln beladen, wieder in den Blutkreislauf gelangen und so embolische Prozesse hervorrufen können.

Zunächst erschien es mir wichtig festzustellen, ob der Tod der Tiere von den koagulierten Eiweißsubstanzen allein, von den Eidotter-Lipoiden oder von der Kombination dieser beiden Stoffe abhängig war; es mußten daher spezielle Versuche angestellt werden. Die Versuchsanordnung war hierbei folgende: Die Bestandteile des Eidotters wurden gesondert intraperitoneal injiziert, und zwar einerseits die Eiweißsubstanzen, andererseits die Lipoide; außerdem wurden beide Bestandteile zusammen eingeführt. Um zu ermitteln, ob die Lipoide bei der Resorption aus der Bauchhöhle andere außer den koagulierten Eiweißsubstanzen mikroskopisch kleine Körper fortführen können, wurden sie in einigen Versuchen zusammen mit Lycopodium injiziert.

B. Versuche mit Lipoiden.

Um zu ermitteln, auf welche Art die intraperitoneal eingeführte Emulsion von Lipoiden resorbiert wird, wurden einige vorläufige Untersuchungen angestellt. So wurden beispielsweise einem Kaninchen von 800 g 2 g Lipoide in Form einer 10%igen Emulsion mit 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal injiziert; nach 12 Stunden wurde das Tier getötet. Bei der Eröffnung der Bauchhöhle fanden sich nur geringe Spuren der eingeführten Emulsion; bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich eine massenhafte Ansammlung von Leukocyten.

Eine ähnliche Anhäufung von Leukocyten wurde in den geringfügigen Resten einer Lecithin-Emulsion gefunden, die demselben Kaninchen in das Zellgewebe injiziert war. Augenscheinlich bewirken die Lecithine eine starke Emigration von Leukocyten; dabei ist es vielleicht sehr wahrscheinlich, daß die Resorption von Lecithinen resp. Lipoiden aus der Peritonealhöhle und aus dem subcutanen Gewebe hauptsächlich durch Leukocyten bewirkt wird.

Als Beispiele folgen in extenso die Protokolle einiger hierzu gehöriger Versuche.

Versuch 7.

18. I. 1913. Einem Kaninchen von 1800 g wurden 60 ccm einer 20%igen Emulsion von Lipoiden mit 0,9%iger NaCl-Lösung (gleich 12 g Lipoide) intraperitoneal injiziert. Das eingeführte Quantum entsprach den Lipoiden von 2 Eidottern. Nach der Einspritzung konnte im Befinden des Tieres nichts Abnormes festgestellt werden, außer einer Gewichtsabnahme in den ersten Tagen. Am 8. II. wurde dieselbe Dosis von Lipoiden in die Bauchhöhle eingespritzt. Nach dieser Einspritzung blieb das Gewicht des Tieres unverändert. Am 27. II. wurden 24 g Lipoide intraperitoneal eingeführt; das Gewicht des Tieres zeigte keine nennenswerten Schwankungen, das Allgemeinbefinden war ein durchaus gutes.

Versuch 9.

25. II. 1913. Ein Kaninchen von 1400 g erhielt in die Vena jugularis 28 ccm einer 5%igen Emulsion von Lipoiden injiziert (1 g Lipoide auf 1 kg des Gewichts). Das Befinden des Tieres war während der Einspritzung sowie in der nächsten Zeit ein völlig normales. Nach 6 Tagen wurde das Tier getötet; bei der Autopsie konnte an den Organen nichts Krankhaftes nachgewiesen werden.

Um die Wirkung beträchtlicher Dosen von Lipoiden bei intravenöser Injektion unmittelbar feststellen zu können, wurden einige Versuche am Ludwigschen Kymographion angestellt. Hierbei wurde die Narkose meist durch Morphium und Chloralhydrat bewirkt; die Tracheotomie und das Einbinden der Kanülen wurde in leichtem Ätherrausch ausgeführt. In allen Versuchen mußten beträchtliche Dosen von Curare angewandt werden, weil die Lipoide die Wirkung dieses Giftes bedeutend abschwächten.

Diese Versuche bilden ein Analogon zu den Versuchen von D. M. Lawrow (l. c.), bei denen nicht sämtliche Eigelb-Lipoide, sondern nur Lecithine bis 2,2 g auf 1 kg des Tieres eingeführt wurden.

Als Beispiel führe ich nachstehenden Versuch 11 an. In dem Protokoll dieses Versuchs werden nur einige Kardiogramme angeführt, und zwar die, welche zum Nachweis der am Herzen und Blutdruck beobachteten Veränderungen dienen. In der Tabelle bedeutet *P* die Zahl

der Herzcontractionen in der Minute, *A* die Pulsamplitude in Millimetern, *H* den Blutdruck in Millimetern der Quecksilbersäule.

Die Resultate sämtlicher Versuche mit Lipoiden sind in der Tabelle II zusammengefaßt.

Versuch 11.

Junger Kater, Gewicht 3,4 kg.
9. II. 1913. $9^h\,20'$ subcutan 0,034 g Morphium mur.;
10^h bis $10^h\,25'$ leichter Ätherrausch.

Zeit	*P*	*A* mm	*H* mm	Bemerkungen
$10^h\,37'$	245	1	198	Norm.
$11^h\,15'$	—	—	—	10 ccm 5% Emulsion von Lipoiden.
$11^h\,16'$	160	2—3	126	
$11^h\,42'$	—	—	—	30 ccm Emulsion.
$11^h\,53'$	—	—	—	
$11^h\,55'$	186	2—3	230	
$11^h\,58'$	—	—	—	10 „ „
$12^h\,00'$	165	2—3	160	
$12^h\,04'$	—	—	—	20 „ „
$12^h\,17'$	200	2—3	236	
$12^h\,43'$	—	—	—	10 „ „
$12^h\,44'$	125	3—5	122	
$1^h\,03'$	—	—	—	10 „ „
$1^h\,04'$	165	4—5	180	
$1^h\,06'$	—	—	—	10 „ „
$1^h\,07'$	165	4—5	180	
$1^h\,25'$	140	3—5	157	

Wie aus dem Versuch ersichtlich, bewirkten die in der Gesamtdosis von 1,47 g auf 1 kg Körpergewicht des Tieres direkt ins Blut eingeführten Lipoide eine starke Belebung des Herzens.

Tabelle II.

Prüfung der Lipoide.

Versuchs-Nr.	Tier	Quantum der injizierten Lipoide g	Dosis der Lipoide auf 1 kg des Tieres g	Art der Einführung	Resultat des Versuchs
10	Kaninchen	1,8	1	intravenös	Die Tiere blieben am Leben.
9		1,4	1	„	
7		12—24	7—14	intraperitoneal	
8		12—24	6—12	„	
15	Meerschweinchen	5	10	„	
16		10	20	„	
10	Katzen	10	2,5	intravenös	
11		5	1,47	„ (Kymographion)	
14		7,5	2,2	„ (Kymographion)	
12	Hunde	7	1,36	„ (Kymographion)	
13		17,5	1,66	„ (Kymographion)	

Aus obigen Versuchen mit Lipoiden geht hervor, daß letzteren bei der Einführung in den tierischen Organismus eine toxische Wirkung nicht zukommt. Sogar bei direkter Einführung ins Blut bewirkten die Lipoide, wie die Versuche am Kymographion zeigen, eine Belebung des Herzens und Verstärkung der Amplituden. Desgleichen ist es mir nicht gelungen, durch wiederholte Einspritzungen in verschiedenen Intervallen anaphylaktische Erscheinungen hervorzurufen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die von E. Pick und T. Yamanouchi[1]) beschriebenen anaphylaktischen Anfälle bei wiederholter Injektion von Lipoiden von einer Beimischung von Eiweiß in ihren Lipoiden herrührten, da nach Rosenau und Anderson[2]) schon äußerst geringe Eiweißmengen (gleich 0,01 bis 0,001 ccm) Anaphylaxie hervorrufen können.

C. Versuche mit koagulierten Eiweißsubstanzen des Dotters.

Versuch 17.

26. I. 1913. Einem Kaninchen von 1940 g wurden 16 g koagulierter Eiweißstoffe des Dotters mit 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal injiziert. Obiges Quantum entsprach den Eiweißsubstanzen von 4 Eidottern. Nach der Injektion konnte im Befinden des Tieres außer einer geringen Abnahme des Körpergewichts nichts Abnormes konstatiert werden. Am 2. III. 1913 wurde das Tier durch Verbluten getötet.

Sektion. In der Bauchhöhle fanden sich in der Gegend des Netzes feste Auflagerungen von geronnenem Eiweiß, die mit einer bindegewebigen Kapsel umgeben waren. Zwischen Magen und Leber waren Verwachsungen bindegewebiger Natur; an den inneren Organen nichts Abnormes. Das Bauchfell glänzend, keine Blutungen. Aus der Peritonealhöhle konnte annähernd dasselbe Quantum der injizierten Eiweißsubstanzen zurückgewonnen werden.

Die Resultate hierher gehöriger Versuche sind in der Tabelle III zusammengefaßt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die von den Lipoiden isolierten denaturierten Eiweißsubstanzen des Dotters bei intraperitonealer Einführung fast gar nicht zur Resorption gelangen, sondern in der Bauchhöhle eingekapselt werden.

---

[1]) E. Pick und T. Yamanouchi, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. 1, 676.

[2]) Zit. nach O. Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. 1, 741.

Tabelle III.

Injektion von koagulierten Eiweißsubstanzen des Dotters.

Versuchs-Nr.	Tier	Quantum der injizierten Eiweiß-substanzen g	Dosis der Eiweiß-substanzen auf 1 kg Gewicht des Tieres g	Resultat des Versuchs
18	Kaninchen	5	5,3	Bleibt am Leben.
19	„	10	5,7	do.
17	„	16	8,0	do.

Bei ihrer Injektion in die Bauchhöhle konnte keinerlei tödlich-toxische Wirkung beobachtet werden. Bemerkenswert ist, daß sich bei der Sektion eines 2 Tage nach der Einspritzung getöteten Tieres in der Peritonealhöhle mikroskopisch keine Leukocyten-Emigration nachweisen ließ.

D. Versuche mit koagulierten Eiweißsubstanzen des Dotters und Lipoiden.

Versuch 20.

8. II. 1913. Ein Kaninchen von 1640 g erhielt intraperitoneal 4 g koagulierter Eiweißsubstanzen des Dotters und 6 g Lipoiden mit 0,9%iger NaCl-Lösung injiziert. Das eingeführte Quantum der Eiweißstoffe und Lipoide entsprach einem Eidotter. Das Gewicht des Tieres nahm progressiv nach der Einspritzung ab, und am 14. II. erfolgte der Tod.

Sektion. In der Bauchhöhle fanden sich auf der Serosa des Darmtraktus geringe Reste geronnener, gelblicher Massen. Das parietale Blatt des Bauchfells war mit punktförmigen Blutergüssen bedeckt. Milz und Lymphdrüsen nicht geschwollen. Starke Leukocyten-Emigration in der Peritonealhöhle.

Die Resultate dieser Versuche ergeben sich aus der Tabelle IV.

Tabelle IV.

Injektion von koagulierten Eiweißsubstanzen des Dotters mit Lipoiden.

Vers.-Nr.	Tier	Das injizierte Quantum entspricht	Resultat des Versuchs
20	Kaninchen	1 Eidotter	Tod.
21	„	1½ „	do.
22	„	4 „	do.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß die gleichzeitige Injektion von Eiweißsubstanzen und Lipoiden des Dotters ähn-

liche Resultate ergibt wie die Eidotter-Emulsion. Diese Kombination wirkt ebenso giftig, obgleich der Tod der Tiere langsamer erfolgt. Auch hier ist ersichtlich, daß geronnene Eiweißsubstanzen, wenn sie zusammen mit Lipoiden eingeführt werden, teilweise zur Resorption gelangen. Außerdem ist hervorzuheben, daß sich in der Bauchhöhle eine starke Leukocyten-Emigration vorfand, ein Umstand, der meines Ermessens besondere Beachtung hinsichtlich der Pharmakodynamik der Eidotter-Lipoide verdient.

E. Versuche mit flüssigem Eiereiweiß.

Im Anschluß an die gemachten Versuche wurde erprobt, ob die Einführung von unverändertem Hühner-Eiweiß in die Peritonealhöhle mit einer allgemeinen toxischen Wirkung verbunden ist.

Versuch 24.

20. II. 1913. Ein Kaninchen von 1120 g erhielt 40 ccm flüssiges Eiweiß intraperitoneal injiziert. Das Eiweiß wurde vorher zwecks Sterilisierung mit Äther geschüttelt und letzterer dann durch Erwärmen bis 40° entfernt. Nach der Injektion des Eiweißes konnten keine besonderen Störungen des Gesamtzustandes wahrgenommen werden.

Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle V verzeichnet.

Tabelle V.

Injektion von flüssigem Eiweiß.

Versuchs-Nr.	Quantum des injizierten Eiweißes ccm	Resultat des Versuchs
23	20	Keine besondere allgemeine Reaktion
24	40	do.
25	60	do.
26	80	do.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, ist die Injektion von flüssigem Eiweiß in die Peritonealhöhle mit keiner besonderen allgemeinen Reaktion verbunden. Augenscheinlich erfolgt die Resorption aus der Peritonealhöhle in kurzer Zeit. Darauf weist auch der Umstand hin, daß sich von 60 ccm einem Kaninchen intraperitoneal injiziertem Eiweiß nach 6 Stunden, als das Tier getötet wurde, nur geringe Spuren in der Bauchhöhle vorfanden.

F. Versuche mit flüssigem Eiereiweiß und Lipoiden.

In diesen Versuchen wurde das flüssige Eiweiß mit Lipoiden zusammen eingeführt. Die Sterilisierung des Eiweißes erfolgte, wie angegeben, durch Schütteln mit Äther.

In den Versuchen 30 und 31 wurde das Eiweiß beim Entfernen des Äthers versehentlich etwas zu stark erwärmt, wobei es teilweise gerann.

Versuch 29.

4. III. 1903. Ein Kaninchen von 1540 g erhielt 60 ccm flüssiges Eiweiß und 18 g Lipoide mit 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal injiziert. Das eingeführte Quantum entsprach dem Eiweiß von 3 Eiern und den Lipoiden von 3 Dottern. Die Injektion wurde anscheinend gut vertragen, nur das Gewicht des Tieres verminderte sich in den ersten 6 Tagen (Minimum des Gewichts 1330 g). Am 3. IV. betrug das Gewicht des Tieres bereits wieder 1550 g.

Die Resultate dieser Versuche sind aus der Tabelle VI zu ersehen.

Tabelle VI.

Injektion von Eiereiweiß und Lipoiden.

Versuchs-Nr.	Tier	Das injizierte Quantum entspricht dem Eiweiß und den Lipoiden von	Resultat des Versuchs
27	Kaninchen	1 Ei	Keine Reaktion
28		2 Eiern	Verminderung des Körpergewichts
29		3 „	do.
30		3 „	Tod } Injektion von geronnenem Ei-
31		4 „	Tod } weiß mit Lipoiden!

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß flüssiges Eiereiweiß zusammen mit Lipoiden ohne besonderen Schaden dem Versuchstiere (Kaninchen) injiziert werden kann. Augenscheinlich erfolgt die Resorption dieser beiden Komponenten in schneller Zeit aus der Bauchhöhle. Anders verhält es sich, wenn geronnenes Eiweiß zusammen mit Lipoiden injiziert wird: diese Kombination führt den Tod der Tiere herbei; bei der Sektion fand sich ein ähnliches Bild wie bei der Einführung von Eigelb-Emulsionen. Somit ist ersichtlich, daß das Resultat des Versuchs bei Einführung von Lipoiden und Eiweißsubstanzen davon

abhängig ist, ob letztere in nativem oder koaguliertem Zustande injiziert werden.

G. Versuche mit Lycopodium.

Diese Versuche wurden angestellt, um nachzuweisen, ob zugleich mit den Lipoiden aus der Peritonealhöhle leichte pulverförmige Substanzen, wie Lycopodium, resorbiert werden können und, falls eine Resorption erfolgt, ob hierdurch embolische oder thrombotische Prozesse hervorgerufen werden können. Natürlich mußte zuerst die Wirkung von intraperitoneal injiziertem Lycopodium allein festgestellt werden.

Versuch 33.

27. VIII. 1913. Ein Kaninchen von 1750 g erhielt intraperitoneal 4 g Lycopodium mit 0,9%iger NaCl-Lösung injiziert. Das Gewicht des Tieres nahm in den 6 Tagen ab, gleichzeitig stellte sich Diarrhöe ein; augenscheinlich war eine Reizung des Bauchfells vorhanden. Am 17. IX. wurde das Tier getötet

Sektion. In der Bauchhöhle fand sich annähernd das injizierte Quantum des Lycopodiums vor, hauptsächlich zwischen den Darmschlingen und auf dem Omentum abgelagert. Die Ansammlungen von Lycopodium hatten sich mit einer bindegewebigen Membran umgeben. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, daß die Lycopodiumsporen völlig intakt waren und sich durch das längere Verweilen in der Peritonealhöhle keinesfalls verändert hatten. Eine Emigration von Leukocyten konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Resultate dieser Versuche sind in der Tabelle VII zusammengefaßt.

Tabelle VII.

Injektion von Lycopodium.

Versuchs-Nr.	Tier	Quantum des injizierten Lycopodiums g	Resultat des Versuchs
32	Kaninchen	2	Gewichtsabnahme
33	Kaninchen	4	do.
34	Kaninchen	6	do.

H. Versuche mit Lycopodium und Lipoiden.

Im weiteren wurden Versuche angestellt, in denen das Lycopodium zusammen mit Eidotter-Lipoiden injiziert wurde.

Versuch 34.

2. IX. 1913. Ein Kaninchen von 1700 g erhielt 2 g Lycopodium und 6 g Lipoide mit 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal injiziert. Das Gewicht des Tieres zeigte in den ersten Tagen eine Abnahme (Minimum des Gewichts 1550 g), um dann wieder allmählich in die Höhe zu gehen.

Am 19. IX. wurde das Tier getötet. Nach Eröffnung der Bauchhöhle fand sich dort nur ein geringeres Quantum des mit den Lipoiden eingeführten Lycopodiums vor. Bei der mikroskopischen Untersuchung eines aus der Peritonealhöhle genommenen Körnchens fand sich folgendes vor: massenhafte Ansammlungen von Leukocyten umgaben einzelne Häufchen von Lycopodiumsporen, also das Bild einer starken Leukocytenemigration.

Die Resultate dieser Versuche ergeben sich aus der Tabelle VIII.

Tabelle VIII.

Injektion von Lycopodium und Lipoiden.

Versuchs-Nr.	Tier	Quantum d. injizierten Lycopodiums g	Quantum d. injizierten Lipoide g	Resultat des Versuchs
34	Kaninchen	2	6	Abnahme des Körpergewichts
35		2	18	do.
36		4	20	do.
37		4	30	do.

Aus den Versuchen ist ersichtlich, daß das Lycopodium, zusammen mit den Lipoiden intraperitoneal injiziert, einiger Resorption unterliegt; gleichzeitig findet eine starke Leukocytenemigration statt. Toxische Prozesse bei der vermutlichen Resorption des Lycopodiums konnten nicht wahrgenommen werden.

J. Versuche mit unverändertem Eidotter.

Im Anschluß an die beschriebenen Versuche wurden noch einige Experimente mit nichtkoaguliertem Eidotter angestellt. Die Sterilisierung erfolgte wie bei den Versuchen mit Eiereiweiß durch Schütteln des Eidotters mit Äther und Entfernen desselben durch Erwärmen bis 40°. Aus dem so behandelten Eidotter wurde mittels steriler, 0,9%iger NaCl-Lösung eine Emulsion angefertigt und zur intraperitonealen Injektion benutzt.

Versuch 38.

9. XI. 1913. Einem Kaninchen von 1700 g wurden 150 ccm einer 10%igen Eidotteremulsion (gleich 1 Eidotter) intraperitoneal injiziert. Nach der Einspritzung konnte im Befinden dieses Tieres nichts besonders Abnormes konstatiert werden. Das Körpergewicht blieb unverändert, der Appetit war normal. Am 15. XI. wurde das Tier durch Verbluten getötet.

Sektion. In der Peritonealhöhle finden sich keinerlei Spuren der eingeführten Emulsion. Das Bauchfell ist normal, glänzend; die inneren Organe sind völlig gesund.

Versuch 40.

13. XI. 1913. Ein Meerschweinchen von 320 g erhielt 15 g Eidotter in 50 ccm 0,9%iger NaCl-Lösung intraperitoneal eingespritzt. Außer einer geringen Abnahme des Körpergewichts in den ersten Tagen war der Allgemeinzustand des Tieres völlig normal. Am 25. XI. wurde das Tier entblutet.

Sektion. Gewicht der Leiche 350 g. In der Peritonealhöhle vollständig normale Verhältnisse; keinerlei Spuren der injizierten Emulsion; an den inneren Organen nichts Abnormes.

Die Resultate der übrigen Versuche sind aus der Tabelle IX zu ersehen.

Tabelle IX.

Injektion von unverändertem Eidotter.

Versuchs-Nr.	Tiere	Gewicht der Tiere g	Quantum der injizierten Eidotter auf 1 kg Körpergewicht d. Tiere g	Das eingeführte Quantum entspricht Eidottern	Resultat des Versuchs
38	Kaninchen	1700	8,8	1	Bleibt am Leben
39	Kaninchen	1450	31,0	3	do.
40	Meerschweinchen	320	23,0	1/2	do.
41	Meerschweinchen	390	19,0	1/2	do.
42	Meerschweinchen	320	47,0	1	do.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß, im Gegensatz zu koaguliertem, unveränderter Eidotter, als Emulsion intraperitoneal injiziert, von den Versuchstieren (Kaninchen, Meerschweinchen) in kolossalen Dosen vertragen wird. Die Resorption des Eidotters aus der Bauchhöhle ist eine vollständige; eine toxisch-tödliche Wirkung wurde in keinem Falle beobachtet.

Zusammenfassung.

Aus den beschriebenen Versuchen geht hervor, daß durch Erhitzen koagulierte Eidotter, in Form von Emulsionen intraperitoneal injiziert, den Tod der Versuchstiere (Kaninchen, Meerschweinchen) zur Folge haben; die eingeführte Emulsion wird zum größten Teil resorbiert, in der Bauchhöhle findet sich eine starke Leukocyten-Emigration. Werden die beiden hauptsächlichsten Bestandteile des Eidotters — die Lipoide und die von ihnen befreiten Eiweißsubstanzen (koagulierte) — gesondert eingeführt, so werden die Lipoide aus der Peritonealhöhle vollkommen resorbiert und vielleicht hauptsächlich durch ausgewanderte Leukocyten aufgenommen. Die denaturierten Eiweißsubstanzen des Dotters werden dagegen fast gar nicht resorbiert, sie werden eingekapselt; eine Leukocyten-Emigration findet nicht statt. Werden jedoch Lipoide und koagulierte Eiweißsubstanzen zusammen injiziert, so findet eine bedeutende Resorption der letzteren statt, und sämtliche Tiere gehen zugrunde. Unveränderter, nicht koagulierter Eidotter kann in Form von Emulsionen in kolossalen Mengen eingeführt werden; diese Injektion hat keine toxisch-tödliche Wirkung: sämtliche Versuchstiere bleiben am Leben.

Flüssiges Eiweiß wird anscheinend gut aus der Peritonealhöhle resorbiert; der Zusatz von Lipoiden bewirkt keinen Tod der Versuchstiere. Wird dagegen dasselbe Eiereiweiß in geronnenem Zustande mit den erwähnten Lipoiden intraperitoneal eingeführt, so bewirkt dieses den Tod der Tiere.

In die Bauchhöhle eingespritztes Lycopodium wird für sich nicht resorbiert, jedoch unter Zusatz von Lipoiden unterliegt es zu einem großen Teile der Resorption.

Auf Grund der ausgeführten Versuche und der Sektionsergebnisse kann gesagt werden, daß der Tod der Tiere von der Anwesenheit und Einwirkung dreier Agenzien abhängig zu machen ist: von koaguliertem Eiweiß, Lipoiden und Leukocyten. Augenscheinlich wird der Tod der Tiere durch Resorption geronnener (!) Eiweißsubstanzen hervorgerufen. Da die Lipoide bei intraperitonealer Injektion eine starke Leukocyten-Emigration hervorrufen, so ist die Annahme vielleicht möglich, daß sowohl die Lipoide wie auch die mit ihnen eingespritzten Eiweißsub-

stanzen bei der Resorption aus der Peritonealhöhle von den Leukocyten aufgenommen und in den Blutkreislauf gebracht werden; gelangen so koagulierte Eiweißsubstanzen in die Blutbahnen, so wäre der Tod der Tiere hauptsächlich durch embolische Prozesse zu erklären.

Die angeführten Versuche zeigen, daß die Eigelb-Lipoide bei intraperitonealer Injektion eine starke Leukocyten-Emigration hervorzurufen imstande sind. Ob diese nur einen lokalen Charakter trägt oder eine Teilerscheinung einer allgemeinen Leukocytose ist, soll Aufgabe unserer nächsten Untersuchungen sein.

Über die Einwirkung von Serum auf Ureasen (spezifische Auxoureasen).

Von

Margarete Falk.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1913.)

Gegenstand dieser Untersuchung waren pflanzliche, Harnstoff spaltende Fermente, Ureasen, und ihr Verhalten dem Serum normaler und vorbehandelter Tiere gegenüber. Die wirksamen Fermentlösungen wurden gewonnen: 1. aus den japanischen Sojabohnen (Glycine hispida); Näheres über die Soja-Urease und genaue Literaturangaben in den Untersuchungen von Armstrong-Horton[1]), 2. aus Akaziensamen (Robinia pseudacacia), siehe die Zemplénschen Arbeiten[2]). Gegenüber der früher von Moll[3]) verwendeten Urease aus Micrococcus ureae haben diese Pflanzenextrakte folgende Vorzüge: stärkere Wirksamkeit, einfachere Darstellung, bei größerer Gewähr für Gleichmäßigkeit und Haltbarkeit der Präparate.

Chemische Arbeitsmethode.

Die Wirksamkeit der Fermente wurde an der Abspaltung von Ammoniak aus Harnstofflösungen erkannt. Zu allen Versuchen wurde verwendet eine jeweils frisch bereitete 2%ige Harnstofflösung (Harnstoff Kahlbaum).

Bei der Herstellung der Fermentlösungen wurden die Armstrongschen Vorschriften genau befolgt; die Bohnen und Samen in der Kaffee-

[1]) Proc. Roy. Soc. Series B, 85, Nr. 577, Mai 1912; 86, Nr. 588, Mai 1913.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, Heft 3; Zeitschr. f. angewandte Chemie 25, 1566, 1912.

[3]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2.

mühle oder Mandelreibe zermahlen, wenn nötig noch im Mörser zerstoßen, bis ein feines Pulver erhalten wurde. Das Mehl wurde mit Petroläther extrahiert, getrocknet und mit dem 5fachen Volumen Wasser für 16 bis 24 Stunden in den Eisschrank gestellt. Dann wurde die Flüssigkeit in der Saugflasche abgesaugt und so von beiden Pflanzen ein wirksamer Extrakt erhalten. Entgegen den Armstrongschen Vorschriften wurden meine Extrakte im Eisschrank ohne Toluol angesetzt, da ich sie z. T. zu Injektionen verwendete. Die Extrakte wurden fast immer frisch verwendet (in vereinzelten Ausnahmefällen waren sie 24 Stunden alt), die Extraktion mit Petroläther ungefähr alle 8 Tage vorgenommen. Im Gegensatz zu den Armstrongschen Versuchen, in denen mit einem Überschuß von Ferment gearbeitet wurde, finden sich unter den kleineren Werten bei meinen Versuchen öfters Schwankungen zwischen den Resultaten der verschiedenen Tage, die ich auf Unregelmäßigkeiten in der Herstellung der Fermentlösungen zurückführen möchte. Die Herstellung eines gleichmäßigen Dauerpräparates ist für spätere Arbeiten bereits im Laboratorium in Angriff genommen.

Die von Armstrong bei seinen Ureaseversuchen angewandte Destillation erwies sich auch mir als hinreichend genau und dabei sehr bequem, so daß ich durchwegs mit ihr gearbeitet habe.

Für die Serumversuche wurde das Blut entweder aus der Ohrvene entnommen, oder größere Mengen wurden durch Verbluten aus der Carotis gewonnen, in sterilen Gefäßen aufgefangen, nach $^1/_2$ bis 1 Stunde abgestochen, dann ungefähr nach 1 Stunde zentrifugiert und das so gewonnene Serum sofort unter Toluol im Eisschrank aufgehoben und möglichst bald verarbeitet. Auf Abweichungen von diesem Vorgehen weise ich bei den entsprechenden Versuchen hin.

Die Versuche wurden nach folgendem Schema in der von Armstrong beschriebenen Apparatur (Erlenmeyer mit doppelt durchbohrtem Gummistopfen, Zu- und Ableitungsrohr mit Gummischläuchen mit Metallklammern) angesetzt: x ccm Fermentlösung $+$ 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%. Für 19 bis 24 Stunden Brutschrank, 38°, dann 15 bis 20 Min. in strömendem Dampf destilliert, in der Vorlage eine abgemessene Menge $^n/_1$-H_2SO_4, aufgekocht und titriert mit $^n/_{10}$-Na(OH). Indicator war Lackmoid-Malachitgrün. Zu jedem Versuch wurden etwa 1 ccm Toluol und 1 ccm Olivenöl zugesetzt. Fast alle Versuche wurden doppelt angesetzt, und die angegebenen Zahlen sind als Mittelwerte von hinreichend gut stimmenden Analysen anzusehen. Die Fehlergrenze wurde in besonderen Versuchen ermittelt. Die Doppelversuche wurden außer in den ersten Versuchen nicht gleichzeitig angesetzt, und zwar wurde beim Ansetzen darauf geachtet, daß die Glieder einer Versuchsreihe genau gleiche Zeit im Brutschrank blieben.

Bei den Kontrollen der Serumversuche wurde die entsprechende Menge phys. Kochsalzlösung aufgefüllt; das Serum mit dem Ferment blieb zur etwaigen Bindung 10 Minuten stehen, dann erst wurde der Harnstoff zugesetzt.

Schema eines Versuchsprotokolls.

Kontrollversuch 1:

0,3 ccm Soja
0,3 „ H_2O } + 2 ccm NaCl 12^{00} + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%
(12^{10} bis 12^{10} Brutschrank).

Hauptversuch 1:

0,3 ccm Soja
0,3 „ H_2O } + 2 ccm Serum 12^{00} + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%
(12^{10} bis 12^{10} Brutschrank).

Kontrollversuch 2:

0,3 ccm Soja
0,3 „ H_2O } + 2 ccm NaCl 12^{20} + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%
(12^{30} bis 12^{30} Brutschrank).

Hauptversuch 2:

0,3 ccm Soja
0,4 „ H_2O } + 2 ccm Serum 12^{20} + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%
(12^{30} bis 12^{30} Brutschrank).

Bei Versuchen mit Fermentmengen unter 2 ccm wurden die Lösungen vor Ansetzen der Versuche auf das Doppelte oder Fünffache verdünnt, um die Ungenauigkeiten beim Abmessen zu verringern.

Vorbehandlung der Versuchstiere.

Im Anschluß an die Darstellung der chem. Arbeitsmethode gebe ich die hauptsächlichen Daten über die Vorbehandlung der Tiere mit Soja- und Robiniaextrakten.

Zu den Injektionen nahm ich kräftige, 2000 bis 4000 g schwere Kaninchen. Da die Pflanzenextrakte Absceßbildungen veranlassen, wurde peritoneale Injektion gewählt. Im Anfang war, wie die Sektion ergab, bei 2 Tieren in den Darm injiziert worden, die von diesen Tieren stammenden Versuche sind daraufhin gestrichen worden. Die tödliche Dosis des Sojaextraktes wurde an 5 Tieren ermittelt; an Dosen zwischen 3,1 bis 4 ccm pro 1 kg Körpergewicht starben 5 Tiere. 1 Tier vertrug ohne Schädigung 3,4 ccm. Der Tod tritt nach 6 bis 24 Stunden unter starker Gewichtsabnahme ein, am häufigsten wurden Atemveränderungen, Atmung fliegend oder vertieft und verlangsamt, Schlaffheit der Muskulatur, besonders der Hinterextremitäten (wohl nicht nur Reizerscheinung nach intraperitonealer Injektion), selten Durchfall beobachtet; die Sektion ergab meist Lungenveränderungen, besonders Unterlappen, häm. Infarkte, Abscesse, blutige Anschoppung. Die Tiere, die wiederholt injiziert wurden, erhielten entweder alle 6 bis 10 Tage 5 ccm, oder jeden 3. Tag 3 ccm der Sojalösung, die auf das Doppelte mit dest. Wasser verdünnt war. Über 6 Injektionen hinaus habe ich keine Erfahrungen. Da ich nicht den Eindruck der Giftgewöhnung hatte, wurde keine Steigerung der Dosen versucht. Von 7 so behandelten Tieren ging 1 Tier durch Peritonitis ein. Die Injektionen wurden meist mit Gewichtsabnahme beantwortet, fast alle Tiere erreichten nach einiger Zeit ihr Anfangsgewicht wieder. Bei

Sektionen kurz nach Reinjektionen vorbehandelter Tiere fand ich häufiger als bei Normaltieren Peritonitis, besonders des Omentum majus. Für Robinia wurde die tödliche Dosis an einem vorbehandelten Tier als 8,4 ccm pro 1 kg ermittelt; weitere Versuche wurden nicht angestellt, da die angewandten Dosen von 10 bis 15 ccm (4 bis 5,5 ccm pro 1 kg) meist gut vertragen wurden und sich der Grenze der üblichen Maximaldosis für peritoneale Injektion bei Kaninchen (20 ccm) nähern. Ob die von mir beobachteten Vergiftungen etwas mit Wirkungen des von Kobert, Ehrlich[1]) u. a. geprüften Robins zu tun haben, kann ich nicht beurteilen. Die Injektion wurde je nach Größe der Dosis alle 8 bis 10 Tage oder jeden 3. Tag vorgenommen. Von 6 so behandelten Tieren starb 1 bald an eitriger Peritonitis infolge eines durchgebrochenen Abscesses in der Bauchwand, 1 nach 4 Wochen im kachektischen Zustand, 1 vertrug 3 Injektionen gut, erhielt tödliche Dosis; 3 vertrugen die Injektionen, reagierten aber z. T. mit starker Gewichtsabnahme und Eiterung an der Injektionsstelle. Daß die Giftwirkungen der Soja- und Robinialösungen von ihrem Gehalt an Urease abhängen, ist weder dem Vergiftungsbild, noch den quantitativen Verhältnissen nach:

Soja	0,5 ccm
gleiche Fermentstärke	
Robinia	10,0 „
Tödliche Dosis Soja . .	3,5 ccm
„ „ Robinia .	8,7 „

anzunehmen. Versuche an Mäusen zur Klärung dieser Frage wurden in Angriff genommen, führten aber zu keinen abschließenden Ergebnissen.

Kritik der chemischen Arbeitsmethode.

Zur Kritik der oben geschilderten chemischen Arbeitsmethode dienen folgende Versuche (ich habe die gefundenen Werte in allen Tabellen in Kubikzentimeter $^n/_1$-NH_3 angegeben):

1. $\overset{+}{U}$ wird nur innerhalb den Fehlergrenzen bei der Dampfdestillation gespalten.

Tabelle I.

Versuchsanordnung	$^n/_1$-NH_3 ccm
20 ccm $\overset{+}{U}$ 2% 15 Min in Dampf destilliert	0,18 0,11

2. Sämtliches, z. B. aus einem Ammoniumsalz abgespaltenes NH_3 wird überdestilliert. (Vergleich mit Kjeldahl.)

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891, Nr. 4, und Fortschritte d. Medizin 1897.

Tabelle II.

Versuchsanordnung	$^n/_1$-NH_3 Kjeldahl ccm	$^n/_1$-NH_3 Dampf dest. ccm
10 ccm $(NH_4)_2SO_4$ 1% + 5 ccm Na(OH)	14,6	14,6
	14,6	14,4

3. Die Wirksamkeit der Fermentlösungen:

0,5 ccm Soja liefern aus 20 ccm 2%iger $\overset{+}{U}$-Lösung im Durchschnitt in 24 Stunden 12,69 $^n/_1$-NH_3.

10 ccm Robinia liefern 10,66 ccm $^n/_1$-NH_3.

Bei vollständiger Spaltung liefern 20 ccm 2%ige $\overset{+}{U}$ 13,36 ccm $^n/_1$-NH_3, der Wert für Soja entspricht also $94{,}98 = 95\%$, für Robinia $79{,}99 = 80\%$.

Tabelle III.

Versuchsanordnung: 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2% Soja ccm	Brutschrank Std.	$^n/_1$-NH_3 ccm
0,5	24	12,76
0,5	24	12,70
0,5	24	12,31
0,5	24	12,69
0,5	25	12,90
0,5	25	12,87
		76,13

0,5 ccm Soja liefern in 24 bis 25 Stunden $\frac{1}{6} \cdot 76{,}13 = 12{,}69$ ccm $^n/_1$-NH_3.

Tabelle IV.

Versuchsanordnung: 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2% Robinia ccm	Brutschrank Std.	$^n/_1$-NH_3 ccm
10	23	12,80
10	20	12,82
10	20	12,34
10	22	9,81
10	22	9,73
10	22	8,78
10	22	8,35
		74,63

10 ccm Robinia liefern in 20 bis 23 Stunden $\frac{1}{7}$ 74,63 = 10,66 ccm $^n/_1$-NH_3.

4. Kontrollen der Fermentversuche stimmen hinreichend befriedigend.

Z. B. gute Versuche:

0,15 ccm Soja 19 Stunden . . . { 3,61 / 3,67

0,30 „ „ 17 „ . . . { 4,13 / 4,13

Schlechter Versuch:

0,30 ccm Soja $20^1/_2$ Stunden . . { 7,59 / 8,36

5. Nach den Angaben Armstrongs nehmen die Extrakte bald an Wirksamkeit ab, was ich bestätigen kann.

Tabelle V.

Versuchsanordnung		$^n/_1$-NH_3
Soja ccm	Alter der Lösung Tage	ccm
0,5	0	12,69 (s. Tab. III)
0,5	3	12,14
0,5	6	2,16

Tabelle VI[1]).

Nr.	Datum	Versuchsanordnung		$^n/_1$-NH_3
		+ U ccm	Serum ccm	ccm
		a)		
1	28. VIII.	20	0,5	0,04
		20	1,0	0,04
		20	1,0	0,08
		20	1,0	0,16
		20	2,0	0,11
2	2. X.	20	2,0	0,13
		20	2,0	0,14
3	1. XI.	20	2,0	0,12
4	8. X.	20	5,0	0,13
5	3. X.	20	15,0	0,00
6	20. X.	20	20,0	0,06
		b)		
	28. VIII.	0,0	1,0	0,00
		0,0	2,0	0,02

[1]) Vgl. Text 6, S. 304.

6. Die in meinen Versuchen verwandten Serummengen wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen a) auf Urease, b) auf freies NH_3 geprüft; die Versuche wurden nach folgendem Schema angesetzt:

a) x ccm Serum + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%
(20 bis 24 Stunden im Brutschrank),

b) x ccm Serum + 20 ccm H_2O
(20 bis 24 Stunden im Brutschrank).

Die in beiden Versuchsreihen gefundenen Zahlen liegen innerhalb der Fehlergrenze.

I. Soja + Normalserum.

Die Versuche: Ferment und Serum wurden nach dem oben angegebenen Schema angesetzt. Die folgende Tabelle VII

Tabelle VII.
Versuch N_1 bis N_{14}.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung				$^n/_1$-NH_3	
		Soja ccm	Brutschrank Std.	Serum ccm	Versuchstier Nr.	Kontrollen: Soja + Kochsalzlösung ccm	Hauptversuch: Soja + Serum ccm
1	1. IX.	0,5	24	1,0	207	13,18	13,10
		0,5	24	1,0	206	13,18	13,08
		0,5	24	0,2	206	13,18	13,17
2	26. IX.	0,5	21	2,0	217	12,33	12,48
		0,5	21	2,0	220	12,33	12,78
3	29. VIII.	0,5	21	1,0	203	12,02	12,01
		0,5	21	1,0	204	12,02	11,86
		0,5	21	1,0	205	12,02	11,96
		0,5	21	1,0	206	12,02	11,05
		0,5	21	0,5	206	12,02	11,91
4	14. X.	0,3	$20^1/_2$	2,0	235	7,88	9,03
5	17. XI.	0,3	19	2,0	ohne Nummer	6,16	7,52
6	20. X.	0,2	22	2,0	237	4,20	6,43
7	7. X.	0,3	19	2,0	231	4,13	8,38
		0,3	19	2,0	226	4,18	8,32
8	22. X.	0,2	19	2,0	241	3,90	4,96
9	17. X.	0,15	22	2,0	ohne Nummer	3,64	4,67
10	21. X.	0,2	25	0,2	234	2,72	4,71
11	1. XI.	0,2	22	2,0 hämolyt.	241	2,44	6,08
12	3. X.	?[1])	21	2,0	223	1,59	6,18
13	27. X.	0,2	21	2,0	234	1,00	5,55
		0,2	21	2,0	237	1,00	5,50
14	29. X.	0,2	19	2,0	243	0,77	5,13

[1]) 0,3 einer stark verdünnten Lösung.

enthält nur Zahlen, die aus Versuchen mit Normalserum gewonnen wurden, und zwar sind die Zahlen nach absteigenden Werten des gebildeten NH_3 angeordnet.

Versuch N_1 bis N_{14} zeigen in den Versuchen Ferment + Serum eine deutliche Vermehrung der Wirksamkeit des Fermentes gegenüber den Kontrollen: Ferment ohne Serum. Diejenigen Stoffe im Serum, die somit zu einer „Vermehrung" des durch eine ureatische Fermentwirkung entstehenden NH_3 führen, bezeichne ich als auxoureatische, oder abgekürzt als Auxosubstanzen, über auxoautolytische Serumsubstanzen vgl. Guggenheimer[1]). Um die Auxosubstanz einwandfrei als eine Substanz zu kennzeichnen, die allein keine ureatische Wirkung hat, die Wirkung der Soja-Urease dagegen steigert, habe ich unter genau gleichen Bedingungen folgende Versuche angesetzt:

1. Soja und Harnstoff,
2. Soja und Serum und Harnstoff,
3. Serum und Harnstoff.

Tabelle VIII.

Datum	Versuchsanordnung Alle Versuche 22 Stunden im Brutschrank	$^n/_1$ NH_3 ccm
	20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%	
1. XI.	0,2 ccm Soja 2 ccm NaCl . . .	2,44
	0,2 „ „ 2 „ Serum . . .	6,08
	0,2 „ H_2O 2 „ „ . . .	0,12

Die Versuchsergebnisse entsprechen der obigen Annahme und werden bestätigt durch die früher erwähnte Versuchsreihe, die zeigte, daß Normalserum in meinen Versuchen keine Urease enthält, s. Tab. VI_1. An dieser Stelle möchte ich an die Untersuchungen Armstrongs über die Beeinflußbarkeit des Sojafermentes durch „accelerative and inhibitive agents" (untersucht wurden nur Stoffe von bekannter chemischer Konstitution) erinnern.

Von Eigenschaften der Auxosubstanz habe ich untersucht:

1. Dialysierfähigkeit,
2. Verhalten gegenüber Temperatursteigerung,

[1]) Arch. f. klin. Med. 112, 270, 1913.

3. Möglichkeit einer Bildung im Brutschrank in 24 Stunden aus im Serum vorhandenen Vorstufen,

4. Verhalten im Serum der mit Soja oder Robinia vorbehandelten Tiere.

II. Soja und Serum vorbehandelter Tiere.

Der übersichtlicheren Darstellung wegen gebe ich zuerst die Versuche mit Serum von vorbehandelten Tieren (einzelne dieser Sera wurden auch zu den späteren Versuchen verwandt).

Versuchsreihe J ist wie Versuchsreihe N angeordnet und zeigt in den Versuchen J_4 bis J_{11} eine deutliche Wirkung der Auxosubstanz.

Tabelle IX_1.

Versuch J_1 bis J_{11}.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung				$^n/_1$-NH_3		Bemerkungen
		Soja ccm	Brutschrank Std.	Serum ccm	Versuchstier Nr.	Kontrollen ccm	Hauptversuch ccm	
1	23. IX.	0,5	19½	2,0	209	12,85	13,18	
		0,5	19½	0,5	209	12,85	13,18	
		0,5	19½	2,0	211	12,85	12,94	
		0,5	19½	0,5	211	12,85	12,91	
2	25. IX.	0,5	24	5,0	215	12,89	12,97	5 Std. nach Injektion von Soja getötet
		0,5	24	2,0	215	12,89	12,78	
		0,5	24	1,0	215	12,89	13,00	
		0,5	24	0,5	215	12,89	13,01	
3	22. IX.	0,5	24	2,0	204	12,50	12,97	
		0,5	24	1,0	204	12,50	13,07	
		0,5	24	0,5	204	12,50	12,65	
4	29. IX.	0,3	20½	2,0	204	6,72	7,62	
		0,3	20½	0,5	204	6,72	7,66	
		0,3	20½	2,0	208	6,72	8,75	
		0,3	20½	0,5	208	6,72	7,96	
		0,3	20½	2,0	210	6,72	8,70	
		0,3	20½	0,5	210	6,72	8,20	
5	6. X.	0,3	20	2,0	210	6,94	8,97	5 Std. nach Injektion von Soja getötet
6	20. X.	0,2	22	2,0	220	4,20	5,49	
7	21. X.	0,2	25	2,0	204	2,72	4,51	
		0,2	25	2,0	217	2,72	4,77	
8	8. X.	0,3	24	2,0	216	2,49	5,30	5 Std. nach Injekt. von Soja getötet
		0,2	24	2,0	224	2,49	7,61	
9	3. X.	0,2	21	2,0	216	1,59	6,74	
10	27. X.	0,2	21	2,0	231	1,00	4,63	
		0,2	21	2,0	232	1,00	5,12	
11	22. X.	0,2	19	2,0	208	3,90	4,63	
		0,2	19	2,0	211	3,90	4,93	

Zu den Versuchen J_2 bis J_{10} wurden die Sera der mit Soja vorbehandelten Tiere (s. Tab. IX_2), und zwar, wenn nicht anders bemerkt, immer einige Tage nach der letzten Injektion, verwendet. Die Sera J_1 und J_{11} stammen von mit Robinia vorbehandelten Tieren (s. Tab. IX_2).

Tabelle IX_2.

Versuchstier Nr.	Art der Behandlung	Datum der Injektionen I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	Bemerkungen
				a) Soja.				
204	Große Dosen	4. IX.	9. IX.	24. IX.	1. X.	7. X.	1. XI.	Nach Inj. von 7,5 ccm Soja getötet
210	„ „	11. IX.	23. IX.	30. IX.	6. X.	—	—	do.
215	2 Inj. „ „	13. IX.	24. IX.	—	—	—	—	do.
216	„ „	12. IX.	25. IX.	2. X.	8. X.	—	—	do.
217	Kleine „	26. IX.	29. IX.	2. X.	6. X.	24. X.	—	Nach Inj. von 7,0 ccm Soja getötet
220	„ „	26. IX.	29. IX.	2. X.	7. X.	—	—	Am 27. X. †
227	2 Inj.	9. X.	19. X.	—	—	—	—	Nach Inj. von 7,5 ccm Soja getötet
231	Kleine Dosen	7. X.	10. X.	13. X.	16. X.	28. X.	—	Nach Inj. von 7,25 ccm Soja getötet
232	„ „	9. X.	11. X.	14. X.	16. X.	1. XI.	—	do.
235	2 Inj.	16. X.	1. XI.	—	—	—	—	Nach Inj. von 12,5 ccm Soja getötet
				b) Robinia.				
203	Große Dosen	3. IX.	9. IX.	—	—	—	—	12. IX. †
208	„ „	5. IX.	11. IX.	24. IX.	1. X.	7. X.	17. X.	Am 3. XI. nach Inj. von Soja getötet
209	„ „	5. IX.	11. IX.	25. IX.	—	—	—	Tödliche Dosis
211	„ „	8. IX.	13. IX.	25. IX.	2. X.	8. X.	17. X.	Am 3. XI. nach Inj. von Soja getötet
218	Kleine „	26. IX.	29. IX.	2. X.	6. X.	17. X.	—	Schwerkrank getötet
219	„ „	26. IX.	29. IX.	2. X.	—	—	—	Am 25. X. nach Inj. von Soja getötet

Auf das quantitative Verhalten der Auxosubstanz und die aus der Tabelle zu entnehmenden Ergebnisse gehe ich später ein.

III. Dialysierversuche.

Bei den Dialysierversuchen wurden je 2 ccm des zu untersuchenden Serums bei Zimmertemperatur dialysiert, je 2 ccm desselben Serums bis zur Beendigung der Dialyse bei Zimmertemperatur für den Kontrollversuch aufgehoben. Dialysiert wurde gegen destilliertes Wasser in den von Abderhalden für seine Reaktion angegebenen Schläuchen (Schleicher & Schüll Nr. 579a) und Glas-

gefäßen, bis die Chlorprobe negativ wurde oder nur noch in Spuren vorhanden war. Innen- und Außenflüssigkeit und Kontrollserum wurden mit Toluol bedeckt. Die Beendigung der Dialyse wurde in 2 Stunden (Wasserwechsel etwa alle 10 Minuten) oder in 16 bis 20 Stunden (Wasser 3 bis 4 mal gewechselt) erreicht; dann wurde das Volumen der Innenflüssigkeit gemessen, der Schlauch mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung unter kräftigem Schütteln ausgespült (Lösung etwa ausgefallener Serumbestandteile!) und die Spülflüssigkeit zu der dialysierten Innenflüssigkeit gefüllt. Auf das so erreichte Gesamtvolumen wurde dann das Kontrollserum aufgefüllt. Z. B.:

2 ccm Serum, 16 Stunden dialysiert, geben
3 ccm Innenflüssigkeit und
3 ccm Spülflüssigkeit
6 ccm Gesamtvolumen des dialysierten Serums.

Kontrollserum:
2 ccm Serum
3 ccm H_2O
1 ccm physiol. NaCl
6 ccm undialysiertes Serum.

Dialysiertes Serum und Serumkontrolle wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen mit Soja angesetzt.

Tabelle X.
Versuch D_1 bis D_4.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung				$^n/_1$-NH_3		
		Dialyse Std.	Chlorprobe	Serum ccm	Versuchstier Nr.	Ferment ohne Serum ccm	Ferment + undial. Serum ccm	Ferment + dial. Serum ccm
1	14. X.	2	Spuren	2	235	7,88	9,03	9,25
2	15. X.	$2^1/_2$—4	„	2	204	2,15	3,59	3,32
		$2^1/_2$—4	„	2	236	2,15	4,38	4,04
		$2^1/_2$—4	„	2	217	2,15	4,37	4,07
3	16. X.	16	negativ	2	237	4,17	6,08	6,03
		16	„	2	220	4,17	4,93	4,91
4	29. X.	$19^1/_2$	„	2	243	4,47	Fehlt	7,11

Zu den Versuchen D_2 und D_3 der Tabelle X wurden auch Sera von mit Soja vorbehandelten Tieren (Nr. 204, 217, 220)

verwendet. Das dialysierte Serum zeigt keinen deutlichen Unterschied außerhalb der Fehlergrenzen gegenüber dem nicht dialysierten; die Auxosubstanz ist in meiner Versuchsanordnung nicht dialysierbar.

IV. 55° 1 Stunde.

Da die Auxosubstanz als nichtdialysierbar befunden wurde, wurde das Verhalten gegen Temperaturerhöhung zuerst durch 1stündiges Erwärmen auf 55° geprüft. Erwärmtes Serum und Serumkontrolle wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen mit Soja angesetzt.

Tabelle XI.
Versuch E_1 bis E_3.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung 55° 1 Std.		$^n/_1$-NH_3		
		Serum	Versuchstier	Ferment ohne Serum	Ferment + Serum	
					nicht erwärmt	erwärmt
		ccm	Nr.	ccm	ccm	ccm
1	20. X.	2	234	2,72	4,71	4,90
2	19. X.	2	237	4,20	6,43	5,69
		2	220	4,20	5,50	5,22
3	29. X.	2	243	0,76	5,13	5,39

Versuch E_2 der Tabelle XI von Tier 220 (s. Versuch D_3).

Das auf 55° erwärmte Serum zeigte gegenüber der Kontrolle (gleiche Menge Serum im Eisschrank aufbewahrt, beide Portionen unter Toluol) keinen deutlichen Unterschied außerhalb der Fehlergrenzen. Die Auxosubstanz wird durch 1stündiges Erwärmen auf 55° nicht zerstört.

V. 2 Minuten gekocht.

Im Anschluß an die eben besprochene Versuchsreihe wurde Normalserum 2 Minuten lang gekocht unter folgenden Bedingungen:

Je 2 ccm Serum wurden auf 20 ccm Volumen mit physiol. NaCl-Lösung aufgefüllt, vorgewärmt und im siedenden Wasserbad genau 2 Minuten gekocht. Nach dem Kochen war die Flüssigkeit leicht opalescent. Die Serumkontrolle wurde auf das gleiche Volumen aufgefüllt, zu beiden wurde Toluol zugesetzt.

Tabelle XII.

Versuch K_1 und K_2.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung 2 Min. gekocht		$^n/_1$-NH_3		
		Serum	Versuchstier	Ferment ohne Serum	Ferment + Serum	
					ungekocht	gekocht
		ccm	Nr.	ccm	ccm	ccm
1	25. X.	2	ohne Nummer	0,28	Fehlt	4,98
2	29. X.	2	243	0,76	5,30	5,26

Gekochtes Serum und Serumkontrolle wurden unter den sonst eingehaltenen Bedingungen mit Soja angesetzt. Gekochtes Serum und Serumkontrolle zeigten keinen deutlichen Unterschied.

Die Auxosubstanz wird durch Kochen während 2 Minuten nicht zerstört.

VI. Entstehung im Brutschrank.

Um zu untersuchen, ob die Auxosubstanz im Serum während des 24stündigen Aufenthaltes im Brutschrank entsteht, wurden folgende Versuche angesetzt:

I. Je 2 ccm Serum 24 Stunden bei 0^0 (schmelzendes Eis im Eisschrank).

II. Je 2 ccm Serum 24 Stunden im Brutschrank.

Beide Portionen unter Toluol werden nach der angegebenen Zeit unter den sonst eingehaltenen Bedingungen mit Soja auf 2 Stunden im Brutschrank angesetzt.

Da, wie erinnerlich, die Versuche mit etwa 20,5 ccm Flüssigkeit von Zimmertemperatur angesetzt werden, wird der Temperaturunterschied der beiden Sera beim Ansetzen ausgeglichen.

Tabelle XIII.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung (s. Text)		$^n/_1$-NH_3		
		Serum	Versuchstier	Ferment ohne Serum	Ferment + Eisschrankserum	Ferment + Brutschrankserum
		ccm	Nr.	ccm	ccm	ccm
1.	30. X.	2	243	0,46	0,65	0,80

Wie die Versuchstabelle zeigt, bewirken Eisschrank- und Brutschrankserum eine geringe Steigerung, Brutschrankserum ein wenig mehr. Die Kleinheit der absoluten Werte erklärt sich durch die infolge der Fragestellung notwendige, kurze Versuchszeit. Doch geben die Zahlen keinen Anhalt für die Annahme, daß die Auxosubstanz bei 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank gebildet wird.

VII. Normal- und vorbehandeltes Serum.

Die Tabelle XIV dient zu einem Urteil über das quantitative Verhalten der Auxosubstanz bei Normal- und vorbehandelten Tieren, und zwar wurden die entsprechenden Versuche am gleichen Tage angesetzt, also unter den gleichen Bedingungen. Die Versuche sind schon unter Reihe J und N aufgeführt, für Einzelheiten ist auf die entsprechende Versuchsnummer verwiesen.

Tabelle XIV.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung (s. Tabelle VII und IX)			$^n/_1$-NH_3		
		Bez.	Normaltier Nr.	Vorbehandeltes Tier Nr.	Ferment ohne Serum ccm	Ferment Normalserum ccm	Ferment vorbeh. Serum ccm
1.	3. X.	J 9 N 12	223	216	1,59	6,18	6,74
2.	21. X.	J 7 N 10	234	217	2,72	4,71	4,77
				204			4,51
3.	15. X.	D 2	236	204	2,15	4,38	3,59
				217			4,37
4.	27. X.	J 10 N 13	234	231	1,00	5,50	4,63
			237	232		5,55	5,12
5.	20. X.	J 6 N 6	237	220	4,20	6,43	5,40
6.	6. X.	D 3	237	220	4,17	6,08	4,93
				Robinia-Tiere			
7.	22. X.	J 11 N 8	241	200	3,90	4,96	4,63
				211			4,93

Von den 9 Versuchen mit Serum der mit Soja vorbehandelten Tiere zeigen 6 eine Abnahme der Auxosubstanz gegenüber Normalserum, 2 verhalten sich etwa wie Normalserum

(beide von Nr. 217, siehe die Versuche der folgenden Arbeit über „kreisende Urease"), 1 zeigt eine Zunahme der Auxosubstanz (Nr. 216). In den Versuchen 5 und 6 ist der Unterschied am deutlichsten ausgeprägt. Nr. 220 war schwer krank, starb unter starker Gewichtsabnahme. Sektionsbefund: schwere eiterige Peritonitis, multiple Abscesse, Lungenveränderungen.

Nr. 220 wurde beide Male mit Nr. 237, das sich laut Versuch 4 wie andere Normaltiere verhielt, verglichen.

Ob die einige Male gefundene Abnahme der Auxosubstanz bei mit Soja vorbehandelten Tieren unter geeigneten Versuchsbedingungen sich konstant beobachten läßt, müssen weitere Versuche lehren. Der Nachweis einer Antiurease wird nur möglich werden, wenn es gelingen würde, die Auxosubstanz ohne Schädigung eines etwa vorhandenen Antifermentes zu entfernen.

Versuch 7 wurde mit Serum der mit Robinia vorbehandelten Tiere angesetzt. Zu einem Urteil fehlen weitere Versuche.

VIII. Andere Versuchsbedingungen.

Zuletzt möchte ich einige Versuche mit anderer als der sonst eingehaltenen Versuchsanordnung erwähnen; bei ihnen ließ sich die Auxosubstanz nicht in der Stärke wie in den übrigen Versuchen nachweisen.

Tabelle XV.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung				$^n/_1$-NH_3	
		Soja ccm	Brutschrank Std.	Serum ccm	Versuchstier Nr.	Ferment ohne Serum ccm	Ferment + Serum ccm
1.	18. X.	0,15	22	0,5	234	3,17	3,65
2.	10. X.	1,00	2	2,0	227	4,57	4,78
		1,00	2	2,0	231		4,66

Versuch 1 der Tabelle XV ist mit 0,5 ccm Serum statt 2 ccm angesetzt.

Versuch 2 — Sojapräparat und Sera 24 Stunden alt, allein diese Eigenschaft pflegt nach den Erfahrungen bei anderen nicht veröffentlichten Versuchen die Auxosubstanz nicht in hohem Grade zu beeinträchtigen.

Dagegen ist an dieser Versuchsanordnung auffallend 1 ccm Soja, also sehr viel Ferment und nur 2 Stunden Brutschrank.

Robinia und 1. Normalserum, 2. Serum mit Soja oder Robinia vorbehandelter Tiere.

Bei Versuchen mit Robinialösungen, die genau nach dem Bild der Sojaversuche angesetzt wurden, konnte keine deutliche Beeinflussung der Robiniaurease durch irgendein Serum festgestellt werden. Geprüft wurden Normaltiere und vorbehandelte Tiere.

Tabelle XVI.

Nr.	Datum	Versuchsanordnung				$^n/_1$-NH_3	
		Robinia ccm	Brutschrank Std.	Serum ccm	Versuchstier Nr.	Ferment ohne Serum ccm	Ferment + Serum ccm
1.	3. IX.	10	24	1,0	208	12,80	12,99
		10	24	1,0	209	12,80	12,80
		10	24	0,5	209	12,80	12,87
2.	8. IX.	10	18	1,0	211	7,45	7,43
3.	22. IX.	10	20	2,0	208	12,58	12,87
		10	20	1,0	208	12,58	12,63
		10	20	0,5	208	12,58	13,02
4.	23. IX.	10	19	2,0	209	6,88	6,94
		10	19	0,5	209	6,88	6,85
		10	19	2,0	211	6,88	6,70
		10	19	0,5	211	6,88	6,77
5.	26. IX.	10	22	2,0	214	9,79	9,64
		10	22	2,0	219	9,79	9,65
6.	29. IX.	10	22	2,0	204	8,57	8,83
		10	22	2,0	208	8,57	8,98
		10	22	0,5	208	8,57	8,57
		10	22	2,0	210	8,57	8,76
7.	30. IX.	6	20	4,0	211	7,75	8,10
8.	13. X.	8	19	1,7	208	10,95	10,60
		8	19	2,0	234	10,95	10,93
		3	20	2,0	208	5,04	5,07
		3	20	2,0	234	5,04	4,90
9.	27. X.	3	23	2,0	242	6,89	6,83
		3	20	2,0	208	5,63	5,33
		3	20	2,0	211	5,63	5,25
		3	20	2,0	231	5,63	5,19
		3	20	2,0	232	5,63	5,21
10.	31. X.	3	19	5,0	218	3,69	3,57
		3	19	5,0	218	3,69	3,78
		3	19	2,0	218	3,69	3,52
		3	19	2,0	218	3,69	3,58
11.	30. X.	3	23	2,0	218	4,91	5,02
		3	23	2,0	243	4,91	5,94

Die Vorbehandlung der Tiere betreffend verweise ich auf Tabelle IX_3.

Es wurden 24-Stunden-Versuche mit 10 bis 3 ccm Lösung, die 12,80 bis 3,60 ccm NH_3 ergaben, angesetzt.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend läßt sich von der Auxosubstanz aussagen: Wenn man nicht zu große Mengen von Sojaurease mit Kaninchenserum zusammenbringt, findet man eine ziemlich erhebliche Steigerung der Ureasewirkung. Die wirksame Substanz ist selbst keine Urease und wird deshalb als Auxourease oder Auxosubstanz bezeichnet. Die Auxosubstanz findet sich in jedem Normalserum, aber auch im Serum von Tieren, die mit Soja oder Robinia vorbehandelt wurden. Vielleicht ist sie hier etwas an Menge vermindert. Der Nachweis der Auxosubstanz gelingt bei 19 bis 24stündigen Fermentversuchen mit Sojamengen unter 0,5 ccm. Eine gesetzmäßige Größe der Auxowirkung konnte bisher nicht ermittelt werden. Die größten Ausschläge scheinen bei kleiner Ureasemenge erhalten zu werden. Die Nachweisbarkeit der Auxosubstanz geht nur bis zu einer unteren Serumgrenze und nicht bei zu kleiner Dauer des Fermentversuches. Noch einmal sei ausdrücklich betont, daß bei sehr starker Fermentwirkung die Auxowirkung nicht mehr nachweisbar ist. Doch handelt es sich da um Versuche, wo an sich schon fast der gesamte Harnstoff gespalten wurde.

Die Auxowirkung des Serums ist insofern spezifisch, als sie für die Robiniaurease nicht nachweisbar ist.

Über den Mechanismus der Auxowirkung und über die quantitativen Beziehungen zwischen der Urease und der Auxosubstanz lassen sich naturgemäß allerlei Betrachtungen anstellen. Da jedoch diese Frage experimenteller Prüfung zugänglich ist, so erübrigt es sich, schon jetzt darauf einzugehen. Betont sei nur, daß man über das Vorhandensein einer Sojaantiurease im normalen Serum und im Immunserum erst nach Ausschaltung der Auxosubstanz wird Klarheit gewinnen können.

Zum Schluß möchte ich noch den logisch möglichen Einwand erörtern, daß die Auxosubstanz ein Ferment sei, das

durch die Soja aktiviert würde. Das wird unwahrscheinlich gemacht durch folgende Gründe:

1. Soja enthält eine hochwirksame Urease, die nach Armstrongs Untersuchungen leicht beeinflußbar ist. Serum enthält unter meinen Versuchsbedingungen keine Urease.

2. Die Auxosubstanz ist zwar nicht dialysierbar, aber sie verträgt 2 Minuten langes Kochen. Die Kochbeständigkeit spricht gegen die Fermentnatur.

Über das Schicksal der Soja-Urease im normalen und im vorbehandelten Organismus.

Von

Margarete Falk.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1913.)

Mit 2 Figuren im Text.

Durch die folgende Arbeit soll die Frage beantwortet werden, ob sich die Soja-Urease einige Zeit nach der Injektion im Blut nachweisen läßt, und ob sich Normaltiere und Tiere, die mit Soja oder Robinia vorbehandelt waren, gleich verhalten; abgekürzt nenne ich sie „Versuche über kreisende Urease".

Die Injektionen wurden, wie in der vorausgehenden Arbeit geschildert, ausgeführt; meist untertödliche Dosen gewählt. Die Kaninchen wurden nach 4 bis 16 Std. aus der Carotis entblutet. Genaueres bei den einzelnen Versuchen. Zur Bewertung der Versuche verweise ich auf Tabelle VI der vorangehenden Arbeit, in der gezeigt wurde, daß Normalserum auch in großen Mengen in meinen Versuchen keine Urease enthält. Die Versuche wurden nach dem bei Tabelle VI angegebenen Schema angesetzt. Die Versuche auf kreisende Urease wurden aus naheliegenden Gründen nur mit Soja ausgeführt, denn

1. wirkt der Soja-Extrakt etwa 20 mal so stark ureatisch wie der Robinia-Extrakt;

2. verdanken wir den Nachweis auch minimaler Mengen Soja im Blut wahrscheinlich der Auxosubstanz. Man darf also aus den gefundenen NH_3-Mengen nicht ohne weiteres auf entsprechend große Ureasequantitäten schließen.

I. Kreisende Urease bei Normaltieren.

Die Tabelle $\overset{+}{U}$ I enthält nur Werte, die mit Serum von Normaltieren gewonnen wurden. Bei der Entblutung zeigte kein Tier eine schwere Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens.

Tabelle $\overset{+}{U}$ I.

Nr.	Datum	Versuchstier Nr.	Körpergewicht g	Inj. Menge Soja ccm	Inj. Menge Soja pro kg Körpergewicht ccm	Entblutet nach der Injektion Std.	Versuch: Serum + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2% Serum ccm	Brutschrank Std.	$^n/_1$-NH_3 ccm
1	6. X.	223	2320	7,5	3,3	4	5	21	1,39
2	8. X.	221	4200	7,5	2,0	4	5	25	0,87
							15	25	1,93
3	19. X.	239	2300	7,5	3,3	6	20	22	1,60
							18	22	0,93
4	20. X.	ohne Nummer	1770	6,7	3,7	15	17	22	1,12
5	18. X.	240	2620	7,5	2,8	16	20	23	1,63
6	24. X.	ohne Nummer	1620	15,0	9,4	4	12	21	4,18
							5	21	1,97
7[1])	5. XI.	242	2600	7,5	2,8	48	18	24	0,51

Einzelheiten zu den Versuchen 1 bis 3 gebe ich bei Besprechung der nächsten Tabelle.

Versuch 4.

Sektion: Peritonitis mit blutigen Belägen am Darm und am Omentum majus. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig. Viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Darm verletzt, Injektion in den Darm unwahrscheinlich.

Versuch 5.

Ohne Befund.

Versuch 6.

Weit übertödliche Dosis injiziert. Nach der Injektion Atmung verändert (vertieft und verlangsamt).

Sektion: Blutige Anschoppung beider Lungen (gew. Befund bei großen Dosen Soja). Darm hyperämisch, stark gas- und flüssigkeitshaltig; viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Versuch 7.

Normaler Befund.

[1]) Herr Prof. Jacoby hatte die Freundlichkeit, die Versuche 7 (Tabelle $\overset{+}{U}$ I) und 2 (Tabelle $\overset{+}{U}$ III) nach meiner Abreise für mich auszuführen.

Die Versuchsergebnisse beweisen, daß sich einige Zeit nach Injektion von Soja eine Urease im Blut nachweisen läßt.

Die Tiere wurden untersucht 4, 6, 15, 16, 48 Stunden nach der Injektion; in allen Fällen wurde Urease nachgewiesen. Eine starke und sichere Abnahme der Urease in der Zeit von 4 bis 16 Stunden zeigt sich nicht; doch wurden nach 48 Stunden die kleinsten Werte, die aber noch weit außerhalb der Fehlergrenze liegen, beobachtet. Dagegen zeigt sich ein Abhängigkeitsverhältnis zwischen Menge Serum und gefundener Urease (s. Versuch 2 und 6). In größeren Mengen Serum findet man mehr Urease. Ebenso läßt sich eine Beziehung finden zwischen injizierten und im Serum wiedergefundenen Mengen Urease (s. Versuch 1, 2 und 6).

Durch Steigerung der injizierten Dosen kann man eine hohe Konzentration der Urease im Blut erreichen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei keinem Normaltier Urease nach Injektion vermißt wurde, und sich auch wohl Gesetzmäßigkeiten, die Menge der Urease betreffend, nachweisen lassen.

Darauf möchte ich im Hinblick auf die Ergebnisse der nächsten Tabelle besonders hinweisen.

II. Kreisende Urease bei mit Soja vorbehandelten Tieren.

Die folgenden Versuche der Tabelle $\overset{+}{U}$ II dienen zur Beantwortung der Frage, ob sich das Serum der mit Soja vorbehandelten Tiere in bezug auf kreisende Urease verhält wie Normalserum. Eine Übersicht über die Vorbehandlung der Tiere gibt Tabelle IX_2 der vorangehenden Arbeit.

Um möglichst fehlerfreie Resultate zu erhalten, wurden 3 Parallelversuche angesetzt, d. h. es wurden an demselben Tage 2 Tieren, einem Normaltier und einem vorbehandelten Tier, von annähernd gleichem Gewicht zu gleicher Zeit die gleiche Dosis Soja injiziert; die beiden Tiere wurden nach einer bestimmten Zeit entblutet. Auf etwaige Unterschiede im Allgemeinbefinden und im Sektionsbefund wurde geachtet. In den übrigen Versuchen wurden vorbehandelte Tiere ohne Paralleltiere untersucht.

Tabelle $\overset{+}{U}$ II.

Nr.	Datum	Normaltier			Vorbeh. Tier			Entblutet nach der Injektion	Versuch: Serum + 20 ccm $\overset{+}{U}$ 2%				Normaltier	Vorbeh. Tier
									Normaltier		Vorbeh. Tier			
		Nr.	Gewicht	Inj. Menge Soja pro kg	Nr.	Gewicht	Inj. Menge Soja pro kg		Serum	Brutschrank	Serum	Brutschrank	$^n/_1$-NH_3	
			g	ccm		g	ccm	Std.	ccm	Std.	ccm	Std.	ccm	ccm
1	6. X.	223	2320	3,3	210	2200	3,3	4	5	21	5	21	1,39	0,72
											8	21		1,07
											10	21		1,28
2	8. X.	221	4020	2,0	216	3800	2,0	4	5	25	5	25	vor 0,13	0,11
									5	25	5	25	nach 0,87	0,20
									15	25	15	25	1,93	0,18
3	19. X.	239	2300	3,3	227	3170	2,4	5	18	23	12	23	0,93	0,31
									20	23	15	23	1,60	0,51
4	24. X.				217	2170	3,2	4			15	21		2,09
											14	21		1,90
5	29. X.				231	2820	2,6	4			15	24		0,10
6	1. XI.				204	2810	2,7	4			15	19		0,09
					232	2930	2,5	4			15	19		0,12
											8	19		0,08
					235	3560	3,5	7			15	24		0,82
											5	24		0,38
7	24. IX.				215	3620	2,1	5			5	24		3,76
											10	24		6,56
											20	20		9,83

Versuch 1.

Vorbehandeltes Tier Nr. 210 war mit hohen Dosen 3 mal injiziert (Zahl der Injektionen vor dem Versuchstag); letzte Injektion am 30. IX.

Sektion: Nr. 210. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig, hyperämisch, Peritonitis. Blutige Beläge am Omentum majus. Viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle.

Nr. 223. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig.

Versuch 2.

Nr. 216 vorbehandelt wie Nr. 210. Letzte Injektion am 2. X.

Sektion: Nr. 216 ohne Befund.

Nr. 221. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig, hyperämisch. An umschriebener Stelle kleine intramurale Darmblutung.

Beiden Tieren wurden vor der Injektion je 10 ccm Blut aus der Ohrvene entnommen; bei den Resultaten ist in der Tabelle „vor“ und „nach“ der Injektion angegeben.

Versuch 3.

Nr. 227 hatte 12 Tage vorher eine einmalige Injektion einer kleinen Dosis erhalten.

Sektion: Nr. 227 viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig.

Nr. 239 viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Darm und Magengefäße hyperämisch. Omentum majus blutig belegt.

Die für Nr. 227 und Nr. 239 erhaltenen Werte sind nicht direkt vergleichbar, da den Tieren nicht pro Kilogramm Körpergewicht dosierte Mengen injiziert wurden und die Mengen Serum nicht übereinstimmen.

Versuch 4.

Nr. 217 war 4 mal mit kleinen Dosen injiziert worden; letzte Injektion am 6. X. Nach der Injektion einige Zeit krank (schwere Dyspnoe und schlaffe Muskulatur), zur Zeit der Entblutung wieder Besserung.

Sektion: Peritonitis bes. am Omentum majus. Darm hyperämisch, stark gas- und flüssigkeitshaltig.

Versuch 5.

Nr. 231 war 4 mal mit kleinen Dosen injiziert worden. Letzte Injektion am 16. X.

Sektion: Peritonitis.

Das Serum wurde etwa 16 Stunden alt verarbeitet.

Versuch 6.

Nr. 204 war 5 mal mit hohen Dosen injiziert worden. Letzte Injektion am 7. X.

Sektion: Heftige Peritonitis. Leberabsceß, subphrenischer Absceß, nach der Pleura durchgebrochen. Absceß am Darm. Verwachsungen.

Serum hämolytisch.

Nr. 232 war 4 mal mit kleinen Dosen injiziert worden. Letzte Injektion am 16. X.

Sektion: Lungen beiderseits blutige Anschoppung der Unterlappen. Heftige Peritonitis bes. am Omentum majus.

Serum hämolytisch.

Nr. 235 hatte vor 15 Tagen eine einmalige Injektion einer hohen Dosis erhalten.

Sektion: Peritonitis bes. am Omentum majus.

Serum etwa 16 Stunden alt verarbeitet.

Versuch 7.

Nr. 215 hatte vor 12 Tagen eine einmalige Injektion einer hohen Dosis erhalten.

3 Stunden nach der Injektion Dyspnoe, schlaffe Extremitäten.

2 Stunden später Dyspnoe schwerer, Leib aufgetrieben. Tier verträgt Seitenlage.

Cornealreflex nicht auslösbar; aus der Carotis entblutet.

Sektion: Lungen beiderseits blutige Anschoppung der Unterlappen. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig. Das Serum war hämolytisch, wurde in den Versuchen mit 5 und 10 ccm 24 Stunden alt, in dem Versuch mit 20 ccm 49 Stunden alt, verarbeitet.

Aufbewahrung wie immer unter Toluol im Eisschrank.

Im ganzen wurden untersucht 9 mit Soja vorbehandelte Tiere. In den Parallelversuchen 1 und 2 zeigen die beiden vorbehandelten, mehrmals injizierten Tiere eine deutlich abgeänderte Reaktion gegenüber der eingespritzten Soja.

Nr. 210 hat wesentlich geringere Mengen Urease als ein Normaltier.

Nr. 216 Werte innerhalb der Fehlergrenzen der NH_3-Abspaltung aus Harnstoff.

Da sich eine abgeänderte Reaktion auch weiterhin beobachten ließ, möchte ich die vorbehandelten Tiere fortan als „Immuntiere" bezeichnen. Im Parallelversuch 3 wurde ein Immuntier nach einmaliger Injektion untersucht. Wenn man Sojamengen und Serummengen auf einen Einheitswert umrechnet, verhält sich das Immuntier ungefähr so wie ein Normaltier.

Bei 3 mehrfach injizierten Immuntieren Nr. 204, 231, 232 wurde keine Urease außerhalb der Fehlergrenzen gefunden.

Ein mehrfach injiziertes Immuntier (Nr. 217) verhält sich wie ein Normaltier. Auf das ungewöhnliche Verhalten von Nr. 217 wurde schon bei Besprechung der Tabelle XIV der vorangehenden Arbeit hingewiesen.

Nr. 235, ein Immuntier nach einmaliger Injektion, enthält etwas weniger Urease als ein Normaltier.

Nr. 215, Immuntier nach einmaliger Injektion, enthält so viel Urease, wie bei keinem anderen Tier wiedergefunden wurde, trotzdem Nr. 227 und Nr. 235 unter genau den gleichen Bedingungen vorbehandelt wurden.

Da Nr. 215 auch noch in bezug auf das Allgemeinbefinden nach der Injektion sich anders als alle sonst beobachteten Tiere verhielt, wurde versucht, an Normaltieren das Krankheitsbild wieder hervorzurufen. Doch gelang mir das trotz Steigerung der Dosis, z. B. beim Normaltier in Versuch 6 der Reihe $\overset{+}{U}$ 1, nicht. Zweck dieser Bemühungen war, zu einem Urteil darüber zu gelangen, ob der Befund: hohe Ureasewerte im Blut nach Injektion kleiner Mengen bei schwerer Krankheit

1. abhängig sei eben vom Auftreten der sichtbaren Krankheitssymptome und

2. bedingt durch Versagen der chemischen Schutzkräfte des Organismus (Abbau der Urease) oder durch Kreislaufschädigungen, z. B. abnorme Durchlässigkeit der Gefäße.

Zusammenfassend läßt sich nach den Versuchsergebnissen aussagen, daß von 6 mehrfach injizierten Immuntieren 5 Tiere geringere Mengen kreisende Urease haben als Normaltiere, davon haben 4 keine Urease außerhalb der Fehlergrenzen.

Ein Tier verhält sich wie ein Normaltier, ein Prozentsatz, mit dem man wohl bei jeder Untersuchung von Immuntieren rechnen kann.

Von 3 vorher nur einmal injizierten Tieren zeigen 2 keine wesentlichen Unterschiede gegenüber Normaltieren, 1 zeigt ein außergewöhnlich großes Ansteigen der Werte für kreisende Urease.

Trotzdem die an den 9 Immuntieren gewonnenen Erfahrungen natürlich nicht zur Fixierung einer Kurve des Ureaseabbaues bei Immuntieren genügen, sollen die beiden folgenden, schematischen Kurven nur dazu dienen, die vorliegenden Versuchsergebnisse anschaulicher zu machen.

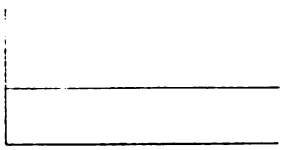


Fig. 1 (Kurve I).

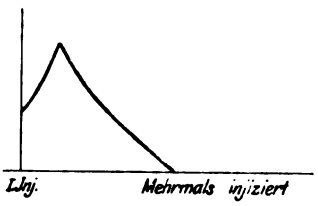


Fig. 2 (Kurve II).

Kurve I gilt für Normaltiere. Auf der Ordinate ist die Menge der kreisenden Urease, 4 Stunden nach der Injektion, aufgetragen.

Kurve II gilt für Immuntiere. Auf der Abscisse ist die Anzahl der Injektionen aufgetragen; Ordinate wie Kurve I.

Dann wäre z. B. Nr. 215 am Maximum der Kurve untersucht, Nr. 227 und 235 im aufsteigenden oder absteigenden Schenkel.

Das Verhalten, das ich in dieser Arbeit für die Urease, also für ein Ferment, nachgewiesen habe, findet Analogien in Beobachtungen, die man früher bei der ersten und der wiederholten Injektion von Substanzen gemacht hat. Schon vor langer Zeit fand Hildebrand in seiner Arbeit über „Schicksale der hydrolytischen Fermente im Organismus“[1]), daß „nach der subcutanen Injektion von Emulsin sehr bald eine Aufnahme

[1]) Virchows Archiv **131**, 1893; **184**, 1906.

ins Blut statt hat, nach einer gewissen Zeit das Blut frei von diesen Substanzen ist, während es zur gleichen Zeit noch mit Leichtigkeit gelingt, durch Injektion von Amygdalinlösung das Versuchstier zu töten. Bei emulsinfesten Tieren tritt bei gleichzeitiger Injektion von Emulsin und Amygdalin die Blausäurevergiftung erheblich später auf". v. Dungern[1]) hat festgestellt, daß artfremdes Eiweiß bei vorbehandelten Tieren schneller aus dem Blute verschwindet als bei Normaltieren. Neuerdings haben Abderhalden und Schiff[2]) gefunden, daß nach wiederholter Einspritzung von Eiweiß viel schneller eiweißspaltende Fermente im Blutserum auftreten als bei der ersten Reaktion.

Da Hildebrand das Kreisen oder Nichtkreisen des zugeführten Emulsins nur indirekt aus der Giftwirkung des Amygdalins erschlossen hat, die Versuche der anderen Autoren sich aber nicht auf Enzyme beziehen, so ist in der vorliegenden Arbeit zum ersten Male das Kreisen eines zugeführten Enzyms bei Normaltieren und das Verschwinden aus dem Blute bei Immuntieren nachgewiesen.

III. Kreisende Urease bei mit Robinia vorbehandelten Tieren.

Die Versuche der Tabelle $\dot{U}$ III wurden wie bei Soja-Immuntieren bei mit Robinia vorbehandelten Tieren durchgeführt.

Tabelle $\dot{U}$ III.

Nr.	Datum	Versuchstier Nr.	Körpergewicht g	Inj. Menge Soja ccm	Inj. Menge Soja pro kg Körpergewicht ccm	Entblutet nach der Injektion Std.	Versuch: Serum + 20 ccm $\dot{U}$ 2% Serum ccm	Brutschrank Std.	$^n/_1$-NH_3 ccm
1	25. X.	219	1800	7,5	4,1	8	20	24	0,08
							10	24	0,06
							5	24	0,09
2	3. XI.	208	2470	7,5	3,0	4	10	24	0,75
							8	24	0,60
		211	1970	7,5	3,25	4	10	24	0,28
							7,5	24	0,18

[1]) v. Dungern, Die Antikörper, Jena 1903, S. 92 u. 110.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, H. 3, S. 225.

Versuch 1.

Nr. 219 hatte 3 Robinia-Injektionen schlecht vertragen, letzte Injektion am 3. X.

Sektion: Retroperitonealer Absceß.

Serum 24 Stunden alt verarbeitet.

Versuch 2.

Nr. 208 hatte 6 Robinia-Injektionen, letzte Injektion am 17. X. erhalten.

Sektion: Eiterung unter der Haut. Darm stark gas- und flüssigkeitshaltig. Beläge auf den Därmen. Blutige Herde in der rechten Lunge.

Versuch 3.

Nr. 211 hatte 6 Robinia-Injektionen, letzte Injektion am 17. X. erhalten.

Sektion: Eiterherd in der linken Niere. Viel freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Darm stark gas- und flüssigkeithaltig.

Bei den 3 untersuchten Robinia-Tieren wurden im

1. Fall (Nr. 219) keine kreisende Urease,
2. Fall (Nr. 211) kreisende Urease kaum außerhalb der Fehlergrenzen,
3. Fall (Nr. 219) weniger kreisende Urease als beim Normaltier gefunden.

Die mehrfach injizierten Robinia-Tiere verhalten sich wie mehrfach injizierte Soja-Tiere.

Zusammenfassung.

I. Normalserum enthält unter den in Frage kommenden Versuchsbedingungen keine Urease.

II. Wenn man Normaltieren Soja-Urease intraperitoneal injiziert, findet man im Serum, eine bestimmte Zeit nach der Injektion — untersucht wurde nach 4 bis 48 Stunden —, in allen Fällen deutlich nachweisbare „kreisende Urease".

III. Von quantitativen Beziehungen der kreisenden Urease bei Normaltieren konnte ermittelt werden:

1. In größeren Mengen Serum findet man mehr kreisende Urease als in kleinen.
2. Durch Steigerung der injizierten Dosen kann man eine hohe Konzentration der kreisenden Urease im Blut erreichen.
3. Nach einer gewissen Zeit (48 Stunden) nimmt die Menge der kreisenden Urease ab.

IV. Wenn man Soja-Immuntieren Soja-Urease intraperitoneal injiziert, findet man eine deutlich abgeänderte Reaktion des Organismus gegenüber der Soja-Urease in bezug auf kreisende Urease.

V. Es wurde ein verschiedenes Verhalten der mehrfach injizierten und der vorher nur einmal injizierten Tiere beobachtet.

VI. In dem Serum mehrfach injizierter Tiere sind geringere Mengen kreisender Urease als beim Normaltier nachweisbar. Bei 1 unter 6 mehrfach injizierten Tieren wurde eine Ausnahme — das Immuntier verhielt sich wie ein Normaltier — beobachtet; von den übrigen 5 Fällen war bei 4 keine Urease außerhalb der Fehlergrenzen zu finden.

VII. In dem Serum eines vorher nur einmal injizierten Tieres wurden nach der zweiten Zuführung Werte für kreisende Urease gefunden, die ein Vielfaches der Norm betragen.

In dem Serum von 2 vorher nur einmal injizierten Tieren wurden Werte für kreisende Urease wie beim Normaltier gefunden.

VIII. Es wurde 3 Tieren, die mit Robinia-Urease vorbehandelt waren, Soja-Urease intraperitoneal injiziert und eine deutlich abgeänderte Reaktion des Organismus gegenüber der Soja-Urease in bezug auf kreisende Urease gefunden. Es sind geringere Mengen kreisender Urease als beim Normaltier nachweisbar.

Ob die dreimal gefundene Abnahme der kreisenden Urease bei Robinia-Immuntieren sich konstant beobachten läßt, müssen weitere Versuche lehren. Zur Wertung dieses Befundes erinnere ich an das verschiedene Verhalten der Soja-Urease und Robinia-Urease gegenüber der in der vorigen Arbeit besprochenen Auxosubstanz.

Über Eiweißspeicherung in der Leber.

Von

N. Tichmeneff (Moskau).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1913.)

Bei der Bestimmung des Glykogens in der Leber mit Eiweiß gemästeter Tiere fiel Pflüger[1]) der ungewöhnlich hohe Eiweißgehalt auf und veranlaßte ihn, die Ansicht auszusprechen, daß die Leber nicht bloß zur Aufstapelung von Glykogen und Fett, sondern auch von Eiweiß dient. Er veranlaßte W. Seitz zu weiterer Prüfung dieser Vermutung. Seitz[2]) fand nun in drei an Hühnern und Enten ausgeführten Versuchsreihen, in denen bei Tieren nach längerer Karenz einerseits sofort, andererseits nach einer darauf folgenden Periode von Eiweißmast Gewicht und Stickstoffgehalt von Leber und Gesamttier bestimmt wurden, bei den Masttieren eine sehr erhebliche Steigerung des Gewichtes und des Gesamtstickstoffs der Leber.

So betrug das Gewicht der Leber in Prozenten des Gesamtgewichts der gerupften Tiere

	bei den Hungertieren	bei den Masttieren
in Versuchsreihe 1 (Hühner)	1,45	4,82
„ „ 2 „	2,83	4,91
„ „ 3 (Enten)	1,48	4,97

Da der prozentische Stickstoffgehalt der Mastlebern nur wenig niedriger war als jener der Hungerlebern, so bezieht Seitz die Gewichts- und Stickstoffvermehrung auf Eiweißansatz und spricht mit Pflüger die Leber als eine Vorratskammer für Eiweiß an.

---

[1]) Pflüger, Arch. f. d. ges. Physiol. **96**, 381, 1903.

[2]) Seitz, Arch. f. d. ges. Physiol. **111**, 309, 1906.

Diese Befunde lassen sich mit einschlägigen histologischen Beobachtungen in Einklang bringen. Schon Affanasiew[1]) hat in seiner bei Heidenhain ausgeführten Untersuchung über die anatomischen Veränderungen der Leber während verschiedener Tätigkeitszustände darauf hingewiesen, daß die Zellen der Hundeleber nach Fibrinfütterung größer sind, deutlicher und minder gleichmäßig granuliert erscheinen und mit Millons Reagens intensivere Rotfärbung annehmen als nach Kartoffelfütterung. Er schließt daraus, daß die Fibrinfütterung zu einer Anreicherung an Eiweiß führt.

In demselben Sinne können auch die von Asher und seinen Schülern Kusmine[2]) und Boehm[3]) mitgeteilten Beobachtungen gedeutet werden, denen zufolge Zufuhr von Eiweiß und Eiweißspaltungsprodukten das Aussehen der Leberzelle beeinflußt, namentlich zu deren meßbarer Vergrößerung führt.

Endlich hat W. Berg[4]) beobachtet, daß Fütterung von hungernden Salamandern und Fröschen mit Casein zum Auftreten von homogenen, die Millonsche Reaktion darbietenden Tröpfchen in den Leberzellen führte, was nach Zufuhr von Rohrzucker, Traubenzucker und Glykogen nicht zu beobachten war.

Die wichtige Versuchsreihe von Seitz hat anscheinend nicht die verdiente Beachtung gefunden. In der Tat können gegen die Allgemeingültigkeit der gezogenen Schlüsse Bedenken erhoben werden. Einmal ist es nicht ohne weiteres sicher, daß die bei Hühnern und Enten festgestellten Verhältnisse auch für die Säugetiere gelten. Sodann fehlt der exakte Beweis, daß die Vermehrung des Gesamtstickstoffs der Leber auf einer Eiweißablagerung beruht. Bei der Rolle der Leber im intermediären Stoffwechsel ist nicht auszuschließen — wenn auch nicht gerade wahrscheinlich —, daß die beobachtete Stickstoffvermehrung auf einem Mehrgehalt an von dem Darm zugeführten Eiweißabbauprodukten, Peptiden, Aminosäuren und daraus in der Leber gebildeten Umwandlungsprodukten, z. B. Harnsäure, beruht.

---

[1]) Affanasiew, Arch. f. d. ges. Physiol. **30**, 385, 1885.
[2]) Kusmine, Zeitschr. f. Biol. **46**, 554, 1905.
[3]) Boehm, ebenda **51**, 409, 1908.
[4]) W. Berg, Anatom. Anzeiger **42**, 251, 1912; Münch. med. Wochenschr. **1913**, Nr. 2; Sitzung des naturw.-med. Vereins zu Straßburg vom 15. November 1912.

Vor allem fehlt aber der Nachweis, daß das anscheinend in der Leber abgelagerte Eiweiß als Reservestoff in der Art des Glykogens verwertet wird. Die beobachtete Vergrößerung der Leber könnte z. B. als Ausdruck einer funktionellen Hyperplasie aufgefaßt werden, wobei an eine Vermehrung der Leberzellen, sei es infolge gesteigerter Gallensekretion, wie sie nach Eiweißzufuhr eintritt, sei es infolge der Verarbeitung der zuströmenden größeren Proteinmenge, zu denken wäre.

Die Frage wäre leichter zu beurteilen, wenn das Schicksal der vom Darm zugeführten Eiweißstoffe und ihrer Spaltungsprodukte in der Leber bekannt wäre. In dieser Beziehung liegt ein beachtenswerter Versuch von Slowzoff[1]) vor, der zum Ziele hatte, das Schicksal der vom Darm resorbierten Proteide durch quantitative Bestimmung der koagulablen Eiweißstoffe zu verfolgen.

Es wurden Ratten nach einer Hungerperiode mit Fleisch gefüttert und der Gehalt des Blutes, der Leber und der Muskeln an Albumin, Globulin und Hämoglobin bzw. an unlöslichen Proteiden (Strominen) bestimmt, und zwar vor der Fütterung, sodann 3 und 18 Stunden nach derselben. Aus den von Slowzoff für die Leber ermittelten Werten geht für die ersten drei Stunden keine Eiweißvermehrung hervor. Nach der 18. Stunde war eine solche nachweisbar, doch nur in geringem Umfang. Im Hinblick auf die unvermeidlichen individuellen Schwankungen ist es nicht gestattet, aus diesem vereinzelt dastehenden Befund weitergehende Schlußfolgerungen zu ziehen.

II.

Auf Wunsch von Herrn Prof. Hofmeister habe ich die von Pflüger angeregte Frage neuerdings aufgenommen. Es sollte zunächst festgestellt werden, 1. ob auch beim Säugetier Befunde zu erzielen sind, die eine Stickstoffaufstapelung in der Leber beweisen, 2. ob der aufgestapelte Stickstoff auf eine Eiweißanhäufung zu beziehen ist und, wenn dies der Fall, 3. ob die Eiweißvermehrung nicht etwa bloß Ausdruck einer funktionellen Hyperplasie ist.

---

[1]) Slowzoff, Russ. Arch. f. Pathol., klin. Med. u. Bakteriol. **5**, 63, 162, 281, 1899 (russisch). Ref. im Jahresber. f. Tierchemie **1899**, 669.

Die Beantwortung des ersten Fragepunktes ergab sich aus der Verwendung von Ratten. Die Entscheidung darüber, ob der aufgestapelte Stickstoff Proteiden angehört, wurde in der Weise angestrebt, daß nicht der Gesamtstickstoff der Leber, sondern nur der Stickstoff der durch Gerbsäure fällbaren, in Alkohol und Äther unlöslichen Stoffe bestimmt wurde. Man darf diesen Stickstoff, ohne einen merklichen Fehler zu begehen, als Proteinstickstoff ansprechen. Eine Beeinflussung der Resultate durch den Gehalt der Leber an Harnstoff, Aminosäuren, Ammoniak, Lipoiden ist so ausgeschlossen.

Mit Rücksicht auf die Frage, ob die Eiweißvermehrung etwa auf eine funktionelle Hyperplasie zu beziehen ist, wurde in dem durch Gerbsäure fällbaren bzw. von vornherein in Wasser unlöslichen Anteil neben dem Stickstoff auch der Phosphor bestimmt. Wenn nämlich die beobachtete Lebervergrößerung auf einer Zellproliferation beruht, so ist zu erwarten, daß die Menge der Kernsubstanz mindestens in gleichem Maße zunimmt, wie jene des Protoplasmas. Die vorliegenden histologischen Befunde sprechen zwar nicht für eine Zellvermehrung. Immerhin erschien eine genauere Prüfung erwünscht. Ich nahm dabei das Verhältnis von Stickstoff und Phosphor zum Maßstab, ausgehend von der Ansicht, daß eine Kernvermehrung nicht ohne Erhöhung des Gehalts an Nucleinphosphor eintreten kann.

Versuchsanordnung.

Ich ließ eine Anzahl weißer Mäuse 2 Tage hungern. Dann wurde die eine Hälfte der Tiere getötet, die Lebern herausgenommen, rasch gewogen und in einer Reibschale mit 9 %iger Gerbsäurelösung fein verrieben. Der erhaltene Leberbrei wurde auf ein gewogenes Filter gebracht, mit Wasser, Alkohol und Äther gründlich ausgewaschen, dann getrocknet, neuerdings gewogen und zur Bestimmung des Stickstoffs nach Kjeldahl, des Phosphors nach Neumann verwendet.

Die andere Hälfte der Tiere wurde nach der Karenz 3 Tage lang reichlich mit gekochtem Rindfleisch gefüttert, dann in gleicher Weise verarbeitet.

Die näheren Versuchsdaten sind aus der Versuchstabelle zu entnehmen. Die angeführten Stickstoff- und Phosphorwerte sind das Mittel von je zwei untereinander stimmenden Analysen.

Versuchstabelle[1]).

			Gewicht vor der Karenzperiode g	Gewicht nach der Karenzperiode g	Abnahme g	Gewicht nach der Fütterungsperiode g	Zunahme g	Gesamtgewicht der Lebern g	Lebergewicht in Proz. des Gesamtgewichts	Trockengewicht des Gerbsäureniederschlags g	Stickstoff des Gerbsäureniederschlags bezogen auf		Phosphor des Gerbsäureniederschlags bezogen auf		Absolute Menge des im Gerbsäureniederschlag enthaltenen		N:P
											Rohgewicht der Leber %	Trockengewicht d. Niederschlags %	Rohgewicht der Leber %	Trockengewicht d. Niederschlags %	N g	P g	
Versuchsreihe I	Nach der Hungerperiode getöt.	Maus A	27,9	24,1	3,8												
		„ B	26,9	21,6	5,3												
		„ C	18,9	14,8	4,1												
		Summe	73,7	60,5	13,2	—	—	3,0135	4,981	0,8205	3,375	12,395	0,308	1,131	0,1017	0,0093	**10,96:1**
	Nach der Fleischperiod. getöt.	Maus D	17,5	13,2	4,3	16,0	2,8										
		„ E	29,6	24,2	5,4	25,5	1,3										
		„ F	27,8	23,0	4,8	25,2	2,2										
		Summe	74,9	60,4	14,5	66,7	6,3	3,9275	5,888	1,301	3,957	11,946	0,246	0,742	0,1554	0,0097	**16,10:1**
Versuchsreihe II	Nach der Hungerperiode getötet	Maus 1	17,2	13,3	3,9												
		„ 2	18,3	14,4	3,9												
		„ 7	19,4	16,5	2,9												
		„ 8	23,1	14,8	8,3												
		„ 12	23,1	18,1	5,0												
		Summe	101,1	77,1	24,0	—	—	3,7325	4,841	1,0253	3,215	11,705	0,267	0,973	0,1200	0,0100	**12,0:1**
	Nach der Fleischperiode getöt.	Maus 3	17,5	13,1	4,4	14,1	1,0										
		„ 4	20,7	16,5	4,2	17,9	1,4										
		„ 6	20,3	16,3	4,0	18,2	1,9										
		„ 11	17,8	14,1	3,7	16,7	2,6										
		Summe	76,3	60,0	16,3	66,9	6,9	4,2355	6,331	1,4060	3,916	11,798	0,242	0,730	0,1659	0,0103	**16,16:1**

[1]) In der zweiten Versuchsreihe vertrugen die Tiere die Karenz minder gut als in der ersten. Drei von den zum Versuch angesetzten Tieren gingen vorzeitig ein und wurden nicht weiter berücksichtigt.

Die in der vorstehenden Tabelle angeführten Zahlen lehren:

1. daß auch bei Mäusen die Eiweißzufuhr zu einer Vergrößerung der Leber führt. Das Lebergewicht, ausgedrückt in Prozenten des Körpergewichts, steigt

in Versuchsreihe I von 4,981 auf 5,888%,
„ „ II „ 4,841 „ 6,331%,

also um etwa 20%.

Die absolute Zunahme an Stickstoff ist viel erheblicher; sie beträgt, wenn man das Gewicht der Tiere am Schlusse der Hungerperiode zugrunde legt[1]), bei den Masttieren

in Versuchsreihe I 53%,
„ „ II 78%.

2. Es ergibt sich, daß sich das Verhältnis von Stickstoff zu Phosphor im Gerbsäureniederschlag durch die Fleischzufuhr in auffallender Weise zugunsten des Stickstoffs ändert.

Es steigt

in Versuchsreihe I von 10,96:1 auf 16,10:1,
„ „ II „ 12,00:1 „ 16,16:1.

Der absolute Phosphorgehalt zeigt in der ersten Versuchsreihe keine merkliche Zunahme, obgleich das verfütterte Fleisch die gewöhnliche Menge von Phosphaten und Phosphatiden enthielt. In der zweiten Versuchsreihe berechnet sich eine geringe Steigerung der Phosphormenge (um 32%), sie bleibt jedoch hinter der Stickstoffvermehrung (+ 78%) erheblich zurück.

Danach darf aus Seitz' und meinen Versuchen geschlossen werden, daß die Hungerleber die Fähigkeit besitzt, bei Eiweißernährung rasch große Mengen Eiweiß aufzunehmen und zunächst festzuhalten[2]).

Ob man jedoch das zur Aufstapelung kommende Eiweiß mit Pflüger schlechtweg als Reserveeiweiß und die Leber

[1]) Begreiflicherweise sind die Gewichte der Tiere nur bei gleichem Ernährungszustand vergleichbar.

[2]) Daß meine Zahlen gegen jene von Seitz zurückbleiben, könnte daran liegen, daß Mäuse für Eiweißmästung weniger geeignet sind als Hühner und Enten. Für die Fettmästung sind solche artspezifischen Verschiedenheiten längst bekannt.

als eine Vorratskammer dafür ansprechen darf, bleibt noch ernstlich zu überlegen.

Die bekannten Reservestoffe der Leber, Glykogen und Fett unterscheiden sich chemisch ganz wesentlich von der Zusammensetzung des Protoplasmas, sie haben auch an dessen Organisation keinen Anteil. Wenn für das nach Eiweißzufuhr in der Leber abgelagerte Eiweiß nachzuweisen wäre, daß es nicht in die Organisation des Protoplasmas eingeht oder daß es chemisch von den Eiweißkörpern der Leberzelle verschieden ist, dürfte man wohl von Reserveeiweiß sprechen. Im Augenblick fehlt dieser Nachweis.

Auch der Begriff einer „Vorratskammer" wird wohl zumeist in dem Sinne aufgefaßt, daß die vorrätig gehaltenen Stoffe vorzugsweise außerhalb der Vorratskammer Verwendung finden. Wenigstens gilt dies für Glykogen und Fett. Ob dies aber für das in der Leber angehäufte Eiweiß gilt, wäre erst zu untersuchen.

Wenn man sonach zwar von einer bei Eiweißmast eintretenden Aufstapelung von Eiweiß in der Leber sprechen kann, so darf diese doch nicht ohne weiteres der Glykogenablagerung zur Seite gestellt werden. Als erwiesen nach Seitz' und meinen Versuchen ist nur anzusehen, daß der Eiweißgehalt der Leber viel unmittelbarer und in höherem Maße von der Eiweißzufuhr mit der Nahrung abhängig ist als der Eiweißgehalt des übrigen Organismus. Sollte sich herausstellen, daß das bei Eiweißmast in der Leber angehäufte Eiweiß im Hunger ebenso rasch wieder verschwindet als es zur Ablagerung kam — Versuche in dieser Richtung sind im Gange —, so wird man es als eine Art „labilen Eiweißes" im Sinne Hofmeisters[1]) aufzufassen haben. Die besondere Aufgabe, die der Leber bei der Verarbeitung dieses Eiweißanteils zufällt, bedarf dann weiterer Untersuchung. Dabei muß sich auch ergeben, ob es gestattet und zweckmäßig ist, hier von „Reserveeiweiß" zu sprechen.

[1]) Vergleiche Magnus-Levy, Handb. d. Pathol. des Stoffw. von C. v. Noorden 1, 308, 2. Aufl.

Über den Abbau der Fettsäuren im Tierkörper.

(Mit Bemerkungen zu den Arbeiten von E. Friedmann in Bd. 55 dieser Zeitschr.)

Von

Leo Hermanns.

(Aus der Medizinischen Universitäts-Poliklinik zu Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 24. Oktober 1913.)[1])

Aus chemischen und physiologischen Versuchen geht hervor, daß Substitution von H-Atomen durch Phenylgruppen den Charakter einer Substanz und ihren Abbau im Tierkörper vollkommen verändert. So macht die Phenylgruppe aus der Essigsäure eine im Organismus unverbrennbare Substanz. Die Phenylessigsäure wird, wenn man sie verfüttert, bekanntlich als Phenacetursäure ausgeschieden. Ebenso läßt die Phenylgruppe bei der α-Phenylacetessigsäure keine Säurespaltung, sondern ausschließlich Ketonspaltung zu[2]). Stets stellt der Benzolring ein Hindernis dar, und somit stehen auch solchen Vermutungen, wie sie E. Friedmann in seiner kürzlich erschienenen Arbeit[3]) an die Verfütterung einer α-Phenylbuttersäure knüpft, von vornherein große Bedenken entgegen.

Man kann die α-Phenylbuttersäure auch als eine Phenyläthylessigsäure auffassen und gewinnt damit zunächst Anschluß an eine Arbeit von Blum und Koppel[4]), in der bewiesen wird, daß die Verfütterung einer Diäthylessigsäure zur Ausscheidung von Propylmethylketon im Urin führt:

$$CH_3CH_2CH\begin{matrix}CH_2CH_3\\COOH\end{matrix} \rightarrow CH_3COCH_2CH_2CH_3 + CO_2$$

[1]) Die Lesung der Korrektur verspätete sich aus äußeren Gründen.

[2]) H. S. 85, 233.

[3]) Diese Zeitschr. 55, 432.

[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 44, 3576.

Diese Säure ist demnach über das tertiäre C-Atom hinaus am β-C-Atom oxydiert worden.

Von dieser Vermutung geht auch E. Friedmann aus und stellt für den mutmaßlichen Abbau der Phenyläthylessigsäure folgendes Schema auf:

$$CH_3CH_2CH\begin{matrix}C_6H_5\\COOH\end{matrix} \rightarrow CH_3CO \downarrow CH\begin{matrix}C_6H_5\\COOH\end{matrix} \rightarrow$$

$$\rightarrow CH_3COOH + CH_2\begin{matrix}C_6H_5\\COOH\end{matrix}$$

(Säurespaltung)

dabei übersieht E. Friedmann eine Arbeit[1]), die Ende Mai dieses Jahres erschienen ist, und in welcher ich nachgewiesen habe, daß die α-Phenylacetessigsäure auf dem Wege der Ketonspaltung abgebaut wird:

$$CH_3COCH\begin{matrix}C_6H_5\\COOH\end{matrix} \rightarrow CH_3COCH_2C_6H_5 + CO_2.$$

Das sich bildende Benzylmethylketon konnte leicht aus dem Urin isoliert werden.

Die Verfütterung von α-Phenylbuttersäure müßte demnach ebenfalls zur Ausscheidung von Benzylmethylketon führen, und es ließe sich sein Auftreten im Urin als Indicator für die Oxydation der α-Phenylbuttersäure verwerten. Aus diesem Grunde, aber auch weil ich vermutete, daß der neutrale Körper, den E. Friedmann[2]) in seiner Arbeit erwähnt, vielleicht das Benzylmethylketon sein könnte, stellte ich folgenden Versuch an.

Einem 7 kg schweren Hunde wurden im Verlaufe von drei aufeinander folgenden Tagen insgesamt 7 g Phenyläthylessigsäure injiziert und der Urin quantitativ aufgefangen. Die gesamte Menge (1200 ccm) wurde sodaalkalisch gemacht und destilliert. Das Destillat ging vollkommen klar über und gab beim Ausschütteln an Äther nicht eine Spur von Keton ab. Er hinterließ keinen Rückstand beim Verdunsten.

Beim Ansäuern des eingeengten Urins fiel ein Öl aus, das in Äther aufgenommen wurde. Der Äther hinterließ beim Ver-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 85, 233, 1913.

[2]) Diese Zeitschr. 55, 436, 1913.

dunsten einen Rückstand, der im Exsiccator krystallinisch erstarrte und sich restlos in Benzol löste. Er wurde destilliert und ging zwischen 268° und 270° über. Es lag also α-Phenylbuttersäure vor. Ausbeute an Rohprodukt 6 g.

Hiernach kann man wohl mit größter Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Phenyläthylessigsäure dem Organismus überhaupt keinen Angriffspunkt bietet. Sie lieferte auch keine Spur von Benzylmethylketon. Dieses Resultat überraschte nicht, sondern ließ sich, wie ich oben ausgeführt habe, vorausahnen.

E. Friedmann hat denn auch keine weiteren Schlüsse aus diesem negativen Ergebnisse gezogen, sondern behielt sich solche für eine andere Arbeit vor, welche die Acetessigsäurebildung aus Essigsäure in der Leber zum Gegenstande hat. Darin unterzieht E. Friedmann seine früheren Versuche einer Revision und stellt fest, daß für die Acetessigsäurebildung aus Essigsäure der Zustand der durchbluteten Leber eine ausschlaggebende Bedeutung besitzt. Glykogenreiche Lebern liefern, wenn man sie nach Zusatz von Natriumacetat durchströmt, keine Steigerung der Acetessigsäurebildung. Beraubt man die Leber ihres Glykogens hingegen, so ruft Essigsäure eine erhebliche Steigerung derselben hervor. Aus diesen Versuchen wird dann der Schluß gezogen: „Da nun Essigsäure die Größe der Acetessigsäurebildung in der überlebenden Leber beträchtlich erhöht, so ist die Annahme, daß die normalen Fettsäuren über die Ketonsäuren durch Säurespaltung zu den um 2 C-Atome ärmeren Fettsäuren abgebaut werden, nicht zu Recht bestehend. Denn sonst müßten ja auch die Fettsäuren mit ungerader Kette Essigsäure und demnach bei der Leberdurchblutung Acetessigsäure liefern."

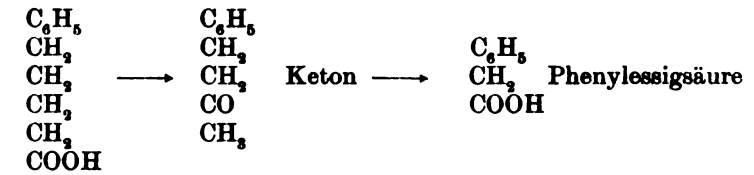
In meiner Arbeit kam ich zu dem Resultat: „daß der Abbau der Fettsäuren nicht über die Ketone führt, sondern daß eine paarige Absprengung von C-Atomen stattfindet unter Bildung von Essigsäure".

Ich sehe mich daher veranlaßt, zu den Schlußfolgerungen E. Friedmanns folgendes zu bemerken.

Es ist ein Widerspruch, wenn zunächst bewiesen wird, daß nur unter bestimmten Bedingungen die Leber aus Essigsäure Acetessigsäure bildet und dann am Schlusse diesem Vorgang wieder allgemeine Gültigkeit beigemessen wird.

Oder ist es berechtigt zu sagen, die im intermediären Stoffwechsel entstehende Essigsäure geht stets in Acetessigsäure über? Dagegen sprechen Friedmanns eigene Versuche[1]). Ferner dürfte wohl auch ein Unterschied darin bestehen, ob ich eine Fettsäure dem Durchspülungsblute zusetze oder die gleiche Quantität Essigsäure der Leber auf einmal anbiete, wodurch ein ganz anderes Reaktionsgleichgewicht geschaffen wird.

Eine größere Beweiskraft muß ich meinen Versuchen zuschreiben, aus denen hervorgeht, daß wir uns den Abbau einer Fettsäure nicht erklären können, wenn wir Ketone als intermediäre Abbaustufe annehmen würden. Ich zeigte am Beispiele des Phenylbutylmethylketons, daß der Organismus von den beiden möglichen Richtungen, in denen die Spaltung der Ketone im Reagensglas verläuft, nur die eine einschlägt, die mit Verlust von zwei C-Atomen verbunden ist! Beim intermediären Auftreten von Ketonen müßte sich z. B. der Abbau der Phenylvaleriansäure nach folgendem Schema vollziehen:



Die Kette würde also jedesmal zunächst um ein, darauf um zwei C-Atome gekürzt und daher eine Säure entstehen, die drei C-Atome weniger hätte. Da dies aber allen bisherigen Erfahrungen widerspricht, so ist diese Annahme falsch. Demgemäß muß man den Modus des paarigen Abbaues der Fettsäuren für erwiesen betrachten, ohne zu verkennen, daß dem Organismus auch noch andere Wege möglich sind.

So wäre noch eine zweite Auffassung mit meinen Resultaten verträglich: Die Acetessigsäure und ihre α-substituierten Homologen werden vom Organismus oxydativ gespalten, sie werden zunächst am α-Kohlenstoffatom oxydiert. Dann müßten α-β-Diketosäuren entstehen, Produkte, die außerordentlich reaktionsfähig wären, denen man aber bisher im intermediären Stoffwechsel nicht begegnet ist.

[1]) a. a. O., ferner Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**, 183, insbesondere Embden und A. Loeb, U. S. 88, 256.

Zu den Bemerkungen von H. Pechstein über die Salzfällung der Kolloide.

Von

K. Spiro.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 15. Dezember 1913.)

Zu meiner Arbeit über die Fällung von Kolloiden hat H. Pechstein[1]) soeben einige Bemerkungen veröffentlicht, auf die ich folgendes erwidern möchte: Wie schon der Titel meiner Arbeit sagt und in der Einleitung zu der vorhergehenden Mitteilung erörtert wurde, kam es mir darauf an, die Salzfällung von Eiweißlösungen zu studieren, so wie sie zur Fraktionierung, Isolierung und Darstellung von Eiweißkörpern angewandt wird. Da hierbei einerseits die Reaktion nach den Untersuchungen von Posternak, Pauli, Höber u. a. eine Rolle spielt, andererseits in der lyotropen Reihe die Endgliedersalze schwach dissoziierter Säuren resp. Basen (Acetate, Tartrate, Citrate resp. NH_4-Salze) sind, suchte ich festzustellen, inwieweit durch Zusatz von Salzlösungen zu Eiweißlösungen die Wasserstoffionenkonzentration geändert wird, wenn man unter Bedingungen arbeitet, die bei der Salzfällung der Eiweißkörper üblich sind. Der Carbonat- und Phosphatgehalt der Eiweißlösungen und dessen Bedeutung für diese Fragen war mir natürlich ebenso gut bekannt wie die durch Sörensen, Hasselbalch und Michaelis ausgebildete Methodik der Reaktionsbestimmung, aber ich habe absichtlich darauf verzichtet, mit „reinen" Eiweißkörpern, soweit solche überhaupt zugänglich sind, zu arbeiten, da ich das obengenannte Phänomen nur so studieren wollte, wie es an den in der Natur vorkommenden Eiweißgemischen, deren physikalisch-chemisches Verhalten durch Isolierung geändert wird, mit den gewöhnlichen Salzlösungen beim Studium der lyotropen Eigenschaften im Laboratorium benutzt worden ist. Ich habe deswegen ausdrücklich betont, daß die Zahlen keine absoluten Werte sind. Ob der p_H der angewandten Lösung bei 5 oder 6 lag, hatte für die vorliegende Frage der Kolloidfällung gar keine Bedeutung, wenn man einerseits bedenkt, wie wenig Säure zu einer $^n/_{1\,000\,000}$-Säurelösung zugefügt werden muß, um eine $^n/_{100\,000}$-Säure zu erhalten, und andererseits sich daran

[1]) Diese Zeitschr. 58, 171.

erinnert, daß Pauli bei seinen Zusätzen bis zu einem Gehalt von 0,03 n ging! Es kam mir nur darauf an, wie ich ausdrücklich hervorhob, untereinander für den beabsichtigten Zweck vergleichbare Zahlen zu erhalten.

Wäre es meine Absicht gewesen, die Pufferwirkungen von Lösungen „reiner" Proteine quantitativ zu bestimmen, so wäre die angewandte Versuchsanordnung selbstverständlich voll „grober Fehler" gewesen: zahlreiche und eingehende Versuche haben mich gelehrt, daß die Pufferwirkung von Lösungen reiner Eiweißkörper überhaupt nur gering und ihre Abgrenzung gegen die Größe der Versuchsfehler schwierig ist.

Wenn sich nun auch bisher nur zeigte, daß die Kalium- und Natriumsalze starker Säuren auch in konzentrierter Lösung keine Pufferwirkung haben, daß aber die Pufferwirkung anderer Salze auf der nur partiellen Dissoziation einzelner Ionen beruht, so erhebt sich doch noch die Frage, ob nicht die Neutralsalze, die streng genommen auch nur partiell dissoziiert sind, ähnliche Wirkungen entfalten können. Eine notwendige Vorbedingung dafür wäre allerdings, daß ihre reinen Lösungen nicht absolut neutral sind. Für die Erledigung dieser Frage bedarf es natürlich der Feststellung der absoluten Werte mit Hilfe verfeinerter Hilfsmittel; die bisher mitgeteilten Versuche, die absichtlich ohne besondere Kautelen angestellt sind, konnten und sollten das nicht entscheiden.

Vergleichende Untersuchungen über den Eisengehalt von Leukocyten und Lymphocyten.

Von

S. Saneyoshi (Tokio).

(Aus der Medizinischen Poliklinik in Freiburg.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1913.)

Eisen findet sich, abgesehen von seinem Vorkommen im Hämoglobin und dessen Zersetzungsprodukten, auch sonst weit verbreitet im Organismus. Es wird von der Mehrzahl der Untersucher als konstanter Bestandteil der Zellen höherer Tiere angesehen, und es wird ihm demgemäß auch eine gewisse Bedeutung im Stoffwechsel zugeschrieben, die nach verschiedenen Richtungen gesucht worden ist.

Es soll indessen nicht verschwiegen werden, daß Masing[1]) neuerdings Zweifel an der Ubiquität des Eisens geäußert hat. Bei der Untersuchung größerer Mengen von Seeigelsperma konnte er nur minimale Spuren von Eisen nachweisen. Diese könnten ganz wohl auf die Beschaffenheit der nicht ganz eisenfreien Reagenzien zurückgeführt werden. Wenn die Ansicht von Masing zutreffen sollte, dann würden freilich verschiedene der Hypothesen über die Bedeutung des Eisens im Organismus hinfällig werden. Aber einstweilen kann man den Beweis für die völlige Abwesenheit von Eisen in Zellen nicht als sicher geführt ansehen, da ja natürlich auch sehr geringe Mengen dieses Metalls physiologisch wirksam sein können.

Schon seit längerer Zeit wird dem Eisen der Zelle eine katalytische Wirkung zugeschrieben, und zwar im wesentlichen auf Grund von Reagenzglasversuchen mit Eisenverbindungen. So hat Manchot[2]) die Sauerstoffaktivierung durch Eisenoxydul untersucht und mit Vorgängen im Organismus in Parallele gesetzt. Wolf und Stöcklin[3]) finden, daß kolloidales Eisen nach Art einer Oxydase wirksam sein kann.

---

[1]) Masing, Zeitschr. f. physiol. Chem. 66.

[2]) Manchot, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 27, 421, 1901.

[3]) Wolf und de Stöcklin, Annales de l'Inst. Pasteur 23, 1911.

Morawitz[1]) fand bei Gelegenheit gasanalytischer Untersuchungen lipämischen Blutes, daß dieses eine gewisse Menge Sauerstoff absorbiert, wenn gleichzeitig ein Eisensalz, nämlich Ferricyankalium, in Lösung ist. Dieses wirkt vermutlich als Sauerstoffüberträger. Aber alle diese Beobachtungen sind doch nur mehr oder weniger wahrscheinliche Analogien. Daß das Eisen mit den Vorgängen der inneren Atmung etwas zu tun hat, ist zurzeit absolut nicht zu entscheiden, ist sogar nicht sehr wahrscheinlich. Wohl aber wäre daran zu denken, daß die Wirkung oxydativer Fermente, die von der inneren Atmung offenbar absolut zu trennen ist, mit dem in den Zellen enthaltenen Eisen etwas zu tun haben kann. Dafür scheinen einige der oben angeführten Versuche in der Tat zu sprechen, ebenso manche sonstigen Erfahrungen aus der Fermentchemie, z. B. über die Bedeutung des Mangans.

Von diesem Gesichtspunkte aus scheint es von Interesse, den Eisengehalt der Leukocyten und Lymphocyten miteinander zu vergleichen. Es sind weniger genetische und morphologische Unterschiede der beiden Zellarten, die solche vergleichenden Untersuchungen nahe legen, als vielmehr funktionelle Differenzen im Verhalten der beiden Formen weißer Blutzellen. Es handelt sich hauptsächlich um Verschiedenheiten der Zellfermente.

Fermentative Funktionen der Leukocyten sind in großer Zahl bekannt. Sie sollen nicht alle erwähnt werden. Auffallend wenig aber ist man über die fermentativen Eigenschaften der Lymphocyten unterrichtet. Nach Bergel[2]) enthalten sie lipolytische Fermente. Dagegen scheint ihnen das eiweißlösende, trypsinähnliche Ferment zu fehlen, das von einer großen Anzahl von Autoren[3]) in den polymorphkernigen Leukocyten gefunden wurde. Auffallend und für unsere Frage von besonderem Interesse ist das Fehlen leicht nachweisbarer Oxydasen in Lymphocyten. Potier, Brandenburg, Erich Meyer[4]) haben die Bläuung der Guajactinktur durch Leukocyten auf eine in diesen

---

[1]) Morawitz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 1909.

[2]) Bergel, Münch. med. Wochenschr. **1909**, Nr. 32.

[3]) Vgl. Müller und Jochmann, Münch. med. Wochenschr. **1907**, Nr. 45; Erben, Münch. med. Wochenschr. **1907**, Nr. 52.

[4]) Lit. bei Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 2. Auflage. **1912**.

enthaltene Oxydase zurückgeführt. Lymphocyten lassen diese Reaktion vermissen. Noch wichtiger ist in den letzten Jahren die von Schultze[1]) näher studierte Indophenolsynthese geworden. Diese gelingt nur mit myeloischen Zellen, und zwar vorwiegend mit reifen, granulierten Elementen, wie sie ja die polymorphkernigen Leukocyten des Blutes und Eiters sind. Die Farbstoffbildung in der Zelle läßt Beziehungen zur Granulation erkennen. Die noch jungen und ungranulierten Zellen des Knochenmarkes, die Naegelischen Myeloblasten, geben die Reaktion nicht regelmäßig. Lymphocyten lassen sie stets vermissen.

An welchen der so zahlreichen fermentativen Funktionen der weißen Blutzellen Eisen beteiligt ist, läßt sich natürlich nicht sagen. Immerhin scheinen die oben aufgeführten Befunde für gewisse Beziehungen zwischen Eisen und Oxydasen resp. Peroxydasen zu sprechen. Auch an das proteolytische Ferment wäre wohl zu denken, da Eisen in vitro nach Kottmann[2]) autolytische Prozesse deutlich fördern kann.

Wenn diese Vorstellungen richtig sind, dann wären vielleicht Unterschiede im Eisengehalt der Leukocyten und Lymphocyten zu erwarten, und zwar zugunsten der Leukocyten. Das würde jener oben entwickelten Anschauung von der Bedeutung des Eisens für einige fermentative Prozesse eine gewisse Basis geben.

Andererseits muß man, wie auch Petry[3]) hervorhebt, in der Beurteilung von Eisenbefunden in Leukocyten vorsichtig sein. Das Eisen kann ja etwa phagozytiertem Hämoglobin angehören. Weiß man doch durch zahlreiche Beobachtungen, daß nicht allein Leukocyten, sondern auch Lymphocyten phagozytieren. Letztere nehmen besonders totes Material, z. B. Blutfarbstoff, in sich auf. Diese Fehlerquelle ist nicht nur theoretisch konstruiert. Hat doch Arnold[4]) bei seinen Untersuchungen über Siderosis und siderofere Zellen gefunden, daß in verschiedener Form gegebenes Eisen von den Leukocyten des Frosches aufgenommen und transportiert wird. Die Leukocyten

[1]) Siehe Fußnote 4 auf S. 340.

[2]) Zit. nach Morawitz, Ergebn. d. inn. Med. und Kinderheilk. 1913.

[3]) Petry, diese Zeitschr. 38, 92, 1912.

[4]) Arnold, Virchows Archiv 161 u. 163.

sollen nach Arnold eine beträchtliche Rolle im Eisenhaushalt des Organismus spielen, besonders auch für den Transport des Materials bedeutsam sein. Falls man also auf größere Differenzen des Eisengehaltes weißer Blutzellen stößt, wird man eventuell an Transporteisen oder phagozytierte Erythrocyten denken müssen.

Vergleichende Eisenbestimmungen von Leukocyten und Lymphocyten liegen, soweit ich die Literatur überblicken konnte, nicht vor. Es existiert eine ältere Angabe Hoppe-Seylers[1]) über den Eisengehalt von Eiterkörperchen. Er fand in 1000 Teilen Trockensubstanz 1,06 $FePO_4$. Interessant und wichtig erscheint auch die Feststellung von Petry, die sich allerdings nur auf die isolierten eosinophilen Granula der Pferdeleukocyten bezieht. Petry fand in möglichst isolierten und hämoglobinfreien Granulationen einen Eisengehalt von 11,6% als Fe berechnet, mehr als sogar dem Eisengehalt des Hämatins entspricht. Außerdem liegen noch Eisenuntersuchungen von Erben bei Leukämie vor. Diese beziehen sich aber nicht auf isolierte weiße Blutzellen.

Ein schwieriger Punkt ist die Beschaffung eines möglichst reinen Ausgangsmaterials, besonders die Trennung der Leukocyten von den Lymphocten. Im Blute ist es schon schwer, die roten Blutscheiben ganz von den Leukocyten zu isolieren. Eine Trennung der einzelnen weißen Zellarten ist überhaupt nicht möglich. Aber auch bei natürlicher oder künstlich hervorgerufener Leukocytenansammlung, also Eiterungen, ist Lymphocytenbeimischung nicht auszuschließen. Nach Borrisow[2]) beträgt die Beimengung von Lymphocyten im letzteren Falle 0,9%, kann aber bis 21% steigen. Meist ist sie nicht sehr bedeutend, so daß man die geringe Beimengung von Lymphocyten zum Eiter kaum als schwerwiegenden Einwand betrachten kann. Lymphocyten können aus Lymphdrüsen in recht reiner Form gewonnen werden.

Eine zweite Schwierigkeit liegt darin, daß es nur schwer möglich ist, die beiden Zellarten sich von derselben Tierart zu verschaffen. Mir stand als Ausgangsmaterial Eiter von Kaninchen

---

[1]) Zit. nach Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chem. 1910.

[2]) Borrisow, Zieglers Beiträge 16.

und Hunden zur Verfügung. Doch konnten Lymphocyten in genügender Menge von diesen Tieren nicht gewonnen werden. Ich untersuchte daher die Lymphocyten aus Kalbslymphdrüsen. Eiter vom Rinde konnte ich nicht bekommen. Auch menschliches Material, besonders blutfreier Eiter, war mir leider nicht zugänglich. Es wurden also Leukocyten und Lymphocyten von verschiedenen Tiergattungen analysiert. Da die Eisenwerte sehr gleichmäßige sind, glaube ich nicht, daß diesem Mangel eine größere Bedeutung beizumessen ist.

Endlich mag noch hervorgehoben werden, daß bei den außerordentlich kleinen Eisenwerten, um die es sich hier handelt, peinlichste Sorgfalt in der Ausschaltung von Fehlerquellen geboten erscheint. In erster Linie ist natürlich jede Beimengung von Blutfarbstoff sorgfältig auszuschließen. Man erkennt diese entweder sofort oder erst nach dem Zentrifugieren. Im Zweifelsfalle entscheidet die spektroskopische Untersuchung auf Hämatin. Noch bedeutungsvoller ist der Fehler, der durch Gebrauch nicht völlig eisenfreier Chemikalien entsteht. Daher müssen alle Chemikalien sorgfältig auf Eisenfreiheit kontrolliert werden. Ferner habe ich es absolut vermieden, irgendwelche eisernen Gegenstände mit dem Material in Berührung zu bringen.

Mir stand folgendes Material zur Verfügung:

1. Kaninchen eiter aus der Pleura, der zufällig bei einer Sektion gefunden wurde. Es waren ca. 150 ccm dicken, rahmigen Eiters, der völlig ohne Blutbeimengungen gewonnen und in Alkohol konserviert worden war. Der Eiter wurde bei 60° getrocknet, mit dem Mörser zerrieben und dann weiter bei derselben Temperatur getrocknet bis zur Gewichtskonstanz.

Frischer Kaninchen eiter, der einem subcutanen Abszeß entstammte und mir von Herrn Dr. Arisawa in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde. Der rahmige, blutfreie Inhalt wurde mehrmals mit Kochsalzlösung gewaschen und dann in derselben Weise mit Alkohol behandelt wie der Pleuraeiter.

Dagegen gelang es mir nicht, größere blutfreie Abszesse durch intrapleurale Injektionen von Aleuronat zu erhalten.

2. Hunde eiter. Durch subcutane Terpentininjektionen erhielt ich wohl große Abscesse, aber diese waren nie ganz blutfrei. Daher sah ich von einer Verarbeitung dieses Materials

ab. Dagegen stellte mir Herr Dr. Fromherz Eiter von einem spontan entstandenen großen subcutanen Absceß zur Verfügung. Die Eiterzellen wurden mehrfach mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis die Spülflüssigkeit klar war. Es resultierte eine graue Masse, in der rote Blutscheiben mikroskopisch nicht nachweisbar waren. Diese Substanz wurde wie die vorige behandelt.

3. Lymphocyten vom Kalb. Lymphdrüsen von Ochsen waren wenig brauchbar. Infolge ihres Stromareichtums war die Ausbeute an Lymphocyten gering, auch waren die Lymphdrüsen meist stark pigmentiert und daher auf Beimengung von Hämoglobineisen verdächtig. Daher verwandte ich nur Kalbslymphdrüsen. Diese wurden von dem anhaftenden Bindegewebe befreit, mit Glas im Mörser zerrieben und die resultierende dickflüssige Masse mit Kochsalz angerührt, dann durch Glaswolle filtriert, wobei Fett und Bindegewebspartikel zurückgehalten wurden. Da im Sediment noch vereinzelte rote Blutscheiben sich fanden, zentrifugierte ich nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung, der 1%ige Essigsäure zugesetzt war, dann noch einige Male mit reiner physiologischer Kochsalzlösung. Die Masse war danach milchweiß geworden, Hämoglobin nicht mehr nachweisbar. Die weitere Behandlung wie oben.

4. Thymusdrüsenzellen vom Kalbe. Sie werden ja heute nach dem Vorgange von Hammar von den meisten Autoren als echte Abkömmlinge des lymphadenoiden Systems angesehen, obwohl sie im Aufbau der Nucleoproteide einige Differenzen gegenüber den Lymphocyten aus Lymphdrüsen zeigen. Die Vorbereitung dieser Zellen war wie vorher.

Die Eisenbestimmung wurde nach der jodometrischen Methode ausgeführt, unter Berücksichtigung der von Masing angegebenen Kautelen. Die Veraschung geschah auf nassem Wege nach Neumann. Stets führte ich gleichzeitig 3 oder 4 Untersuchungen mit demselben Material aus, die nur dann Verwendung fanden, wenn die Resultate gut miteinander übereinstimmten. Im folgenden seien aus der großen Zahl meiner Bestimmungen einige tabellarisch zusammengestellt. Die Wiedergabe aller Versuche erübrigt sich, da sich stets dieselben Werte zeigten, nachdem ich erst in der Methodik genügend Erfahrung hatte.

1. Kaninchenei ter (in Alkohol konserviert).

Trockensubstanz (g)	Fe (mg)	Fe-Gehalt in ‰
2,0058	0,2189	0,1091
2,0044	0,2005	0,100
1,8792	0,2076	0,1104
1,7454	0,1702	0,0975

Im Durchschnitt: 0,1042 ‰ Fe.

2. Kaninchenei ter (frisch).

Gewicht der Trockensubstanz (g)	Eisen (mg)	Eisen in ‰	
2,2518	0,2141	0,0943	0,1086
2,2542	0,2818	0,1250	

3. Hundeeiter.

2,8914	0,3728	0,1289	0,1215
2,8892	0,4067	0,1407	
2,8911	0,3076	0,1064	
2,9029	0,3195	0,1101	

4. Lymphdrüsenzellen.

1,7916	0,2360	0,1311	0,1271
1,7878	0,2202	0,1231	

5. Thymuszellen.

1,7050	0,2279	0,1317	0,1310
1,6552	0,2223	0,1342	
1,7306	0,2143	0,1234	
1,6622	0,2075	0,1249	
2,0980	0,3046	0,1451	
2,1036	0,2247	0,1067	

Wider Erwarten zeigen die Zahlen meiner Tabelle, daß ein Unterschied im Eisengehalt zwischen neutrophilen Leukocyten und Lymphocyten aus Lymphdrüsen und Thymus nicht besteht, daß speziell die Leukocyten nicht eisenreicher sind als die Lymphocyten. Im Gegenteil, es findet sich sogar ein kleiner Unterschied zugunsten der Lymphocyten. Auf diesen möchte ich aber wegen der Geringfügigkeit der Differenzen kein Gewicht legen, und zwar um so weniger, als bei Verarbeitung der Lymphdrüsen Beimengungen sehr geringer Hämoglobinmengen nicht immer ganz sicher auszuschließen sind.

Die neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten des Hundes und die ihnen funktionell entsprechenden pseudoeosinophilen Leukocyten des Kaninchens zeigen also keineswegs einen besonders hohen Eisengehalt. Dagegen fand Petry, wie schon erwähnt wurde, ungemein viel Eisen in den eosinophilen Granulationen des Pferdeblutes, und zwar rund hundertmal mehr, als ich in den Leukocyten. Auch das spricht für die Selbständigkeit der eosinophilen Granulationen, deren Beziehungen zum eisenhaltigen Hämoglobin ja von verschiedenen Seiten schon seit langer Zeit diskutiert wird.

Die Tatsache, daß Leukocyten nicht wesentlich mehr Eisen enthalten als Lymphocyten, könnte gegen die Bedeutung des Eisens beim Zustandekommen der Oxydasereaktionen angeführt werden. Aber wohl kaum mit Recht; denn es kommt dabei ja gewiß nicht auf die absolute Eisenmenge an, sondern vielmehr darauf, in welcher Form das Eisen sich in der Zelle findet und wie die strukturellen Eigentümlichkeiten derselben sind.

Immerhin sprechen die Befunde nicht dafür, daß der Eisengehalt der Zellen jener bestimmende Faktor ist, der die fermentativen Unterschiede der Leukocyten und Lymphocyten erklärt.

Anaphylaxie und Heilsera.

Von

O. Kammann.

(Aus dem staatlichen Hygienischen Institut zu Hamburg.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1913.)

Die Frage der Anaphylaxie gewinnt bei der praktischen Anwendung der Heilsera am Menschen besondere Bedeutung. Wir kennen heute eine ganze Reihe von zweifellos wirksamen, therapeutisch und prophylaktisch bewährten Seris, wie gegen Diphtherie, Dysenterie, Tetanus usw., und die Forschung ist emsig bemüht, auch gegen andere Infektionskrankheiten eine erfolgreiche Serumtherapie durchzuführen. Bei dieser Sachlage kann es leicht vorkommen, daß eine Person, die an ein und derselben Infektionskrankheit mehrere Male erkrankt, ein zweites oder drittes Mal eine Schutzimpfung bekommt, deren Hauptsubstrat aus denselben Eiweißstoffen, meistens aus Pferdeserum besteht.

Beim Auftreten der Anaphylaxie entwickeln sich fast unmittelbar nach der Reinjektion des Serums Urticaria und Ödeme; es treten Brechreiz und Kollapserscheinungen auf, die zuweilen einen bedrohlichen Charakter annehmen können.

Wenn auch im allgemeinen die Gefahr einer anaphylaktischen Erkrankung nicht allzu hoch eingeschätzt werden darf, da bislang nur ganz vereinzelt dastehende Todesfälle vorgekommen sind, die mit einiger Wahrscheinlichkeit auf die Reinjektion von Pferdeserum zurückzuführen waren, erscheint es doch außerordentlich wünschenswert, diese Gefahr ganz zu vermeiden. Es hat demnach auch nicht an Bestrebungen gefehlt, die Anaphylaxie zu bekämpfen, und alle Bemühungen sind ursprünglich von der Idee ausgegangen, die Giftwirkung des zu injizierenden Serums auf irgendeine Weise herabzusetzen.

Die amerikanischen Forscher Rosenau und Anderson[1]) berichten schon in ihren Mitteilungen im Jahre 1906 über langdauernde, aber vergebliche Versuche, dem Serum seine giftigen Eigenschaften zu entziehen. Aber auch ihre weiteren zahlreichen experimentellen Untersuchungen nach dieser Richtung hin blieben vollständig fruchtlos: Das Serum blieb nach wie vor so giftig, wie es vorher war. Die beiden Forscher haben die verschiedensten physikalischen und chemischen Mittel herangezogen, um zu einem Präparat zu gelangen, das keine Überempfindlichkeit mehr verursachte. Nacheinander wurden ausprobiert: Buttersäure, Kaliumpermanganat, Natriumcitrat, Alkohol, Bernsteinsäure, Wasserstoffsuperoxyd, Ammoniumsulfat, Jodoform, Chloroform, Trikresol, Röntgenstrahlen, Filtrieren durch Porzellankerzen. In einer neueren Arbeit haben die genannten Forscher verschiedene Fermente und Alkaloide, wie Diastase, Pankreatin, Myrosin, Invertin, Emulsin, Pepsin und andere Enzyme in saurer und alkalischer Lösung, Atropin, Strychnin, Morphin, Coffein auf Sera einwirken lassen, ohne den geringsten Erfolg zu verzeichnen. Auch ein wiederholtes Einfrieren und Wiederauftauen des Serums hatte ebensowenig einen Einfluß auf die Toxizität des Serums, als eine 6stündige Erhitzung auf 60°. Erst die Erwärmung auf 100° vermochte die Giftkomponente zu zerstören. Diese Art der Entgiftung ist natürlich für Heilsera nicht verwendbar, da auch die Antitoxine bei diesem Verfahren zerstört werden.

In neuerer Zeit fand Besredka[2]), daß man Sera nach vierfacher Verdünnung mit destilliertem Wasser selbst bis auf 120° durch 15 Min. erwärmen kann, ohne im geringsten die anaphylaktisierenden Eigenschaften herabzusetzen. Hiernach wäre das Sensibilisinogen im höchsten Grade thermostabil. Nach demselben Forscher verliert sich durch Erwärmen nicht nur die Toxizität, sondern auch die Fähigkeit des Serums, sensibilisierte Tiere antianaphylaktisch zu machen.

Daß verschiedene Serumfraktionen verschiedene sensibilisierende Fähigkeiten besitzen, haben Versuche von Dörr und Raubitschek[3]) gezeigt. Sie fällten 10fach mit destilliertem Wasser verdünntes, für Kaninchen ungiftiges Pferdeserum durch Einleiten mit Kohlensäure aus; der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit kohlensäurehaltigem Wasser gewaschen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Die Reihe von Meerschweinchen, die mit diesem Kohlensäureglobulin sensibilisiert waren, waren erst nach 33 Tagen anaphylaktisch, während die zweite Serie von Meerschweinchen, die mit dem Filtrat des Globulinniederschlages behandelt waren, bereits nach 22 Tagen anaphylaktisch reagierten. Es zeigte sich also, daß beide Serumfraktionen den anaphylak-

[1]) Rosenau und Anderson, Bulletin, Hygienic Laboratory, Washington 1906, Nr. 29; 1907 Nr. 36.

[2]) Besredka, Annales de l'Inst. Pasteur, Oktober und Dezember 1907; Juni 1908.

[3]) Dörr und Raubitschek, Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 13; Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 33.

tisierenden Körper enthielten, daß aber in der mit Kohlensäureglobulin behandelten Reihe der Zustand durchweg später zur Entwicklung kam.

Auch Gay und Adler[1]) fanden beim fraktionierten Ausfällen mit Ammoniumsulfat und wiederholtem Umreinigen durch Umfällen, daß die Niederschläge aus zunehmender Ammoniumsulfatsättigung wachsende Toxizität, aber fallendes Sensibilisierungsvermögen aufwiesen. Die letzte Fraktion war ebenso toxisch wie normales Pferdeserum, aber weniger sensibilisierend als dieses. Die erste Fraktion, bei $^1/_3$ Sättigung mit Ammoniumsulfat, war dagegen ebenso sensibilisierend wie Originalserum, aber absolut atoxisch. Diese Fraktion nannten die Forscher „Euglobulin" und betrachteten sie als eine einheitliche Eiweißsubstanz von sensibilisierendem Charakter. Neuere Untersuchungen haben indes gezeigt, daß bei dem sogenannten Euglobulin von einem einheitlichen Eiweißkörper keine Rede sein kann.

Einen praktischen Versuch im Großen, das Serum ungefährlich zu machen, hat eigentlich nur Gibson[2]) ausgeführt. Von der Beobachtung ausgehend, daß die Antitoxine bei Fällung der Sera mit Ammoniumsulfat nahezu quantitativ ins Präzipitat übergehen, gab er ein Verfahren an, die antitoxischen Globuline rein darzustellen. Nach den Berichten von Park und Throne[3]) über die Anwendung dieses Gibsonserums werden die toxischen Körper doch partiell mit ausgefällt, da noch in einer ganzen Reihe von Fällen, die mit diesem Serum behandelt wurden, Serumkrankheiten auftraten.

Besredka hat Versuche angestellt, auf zweierlei Weise den anaphylaktischen Störungen beizukommen, einmal durch Vorbehandlung des Serums im Sinne einer Entgiftung, sodann durch Vorbehandlung des Tieres, um es gegen die Giftwirkung des Serums zu immunisieren. Alle Untersuchungen im Sinne einer Entgiftung schlugen fehl. Weder die Gramsche Lösung, noch die Fällung mit destilliertem Wasser, noch die Extraktion mit Äther, noch längerer Kontakt mit Tierkohle verhinderten die krankmachende Wirkung des Serums bei der Reinjektion. Weitere Untersuchungen über die Serumgiftigkeit zeigten, daß diese bei den verschiedenen Seris außerordentlich wechselte; neben ausgesprochen giftigen gelangten Sera von ganz geringer Toxizität zur Untersuchung. Es stellte sich heraus, daß diejenigen Sera, die auf 55 bis 56° erhitzt waren, die geringste Giftigkeit besaßen. Diese Methode der Entgiftung von Heilseren durch intermittierende Erwärmung an verschiedenen Tagen auf nur 50° wird an allen französischen Seris im Institut Pasteur durchgeführt mit dem Erfolge, daß Serumerscheinungen in Frankreich relativ selten sind oder doch nie so intensiv auftreten, als da, wo nichterhitztes Serum im Handel ist. Die üblen Nebenwirkungen des Serums können zum Teil auch durch längere Lagerung verringert werden. Jedes therapeutische Serum ist an und für sich während 2 Monaten nach der Gewinnung

[1]) Gay und Adler, Journ. of med. Res. 18, Juni 1908.
[2]) Gibson, Journ. Biol. Chemistry 1, 1906.
[3]) Park und Throne, American Journ. of the med. Soc. 1906.

als stark toxisch anzusehen; deshalb geht das Bestreben dahin, durch ausschließliche Anwendung von mindestens 2 Monate altem Serum einen der Hauptfaktoren der Serumgiftigkeit mit Sicherheit auszuscheiden. Es bleiben dann noch toxische Substanzen zurück, die dem Serum als solchem individuell zugeschrieben werden müssen. Da die Dosierung einer solchen Serumgiftigkeit keine Schwierigkeiten macht, könnte dem Reglement, das im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie ausgearbeitet ist, nach Besredka folgende fünfte Bedingung angefügt werden: ein therapeutisches Serum darf die mittlere, den meisten Seris gemeinsame Giftigkeit nicht überschreiten.

Die Serumnebenwirkungen können aber ganz vermieden werden, wenn die Versuchstiere selbst gegen die zweite Injektion refraktär, d. h. antianaphylaktisch gemacht werden, indem nämlich vor der eigentlichen intravenösen Reinjektion ganz kleine Mengen des betreffenden Materials injiziert werden. Eingehende Versuche hierüber haben gezeigt, daß dieser Zustand von Antianaphylaxie außerordentlich schnell eintritt und längere Zeit andauern kann.

Durch dieses sichere Mittel zur Verhütuug der Serumkrankheit dürften auch die Bedenken geschwunden sein, die bislang der intravenösen Einverleibung von Heilseris entgegengestanden haben.

Eine vorübergehende Immunität konnte Besredka dadurch erzielen, daß er die Empfindlichkeit des zentralen Nervensystems durch Narkotica herabsetzte, indem er von der Erwägung ausging, daß die Serumkrankheit durch das Zentralnervensystem bedingt sei. Er brachte sensibilisierten Meerschweinchen in Äthernarkose sonst tödliche Dosen intracerebral bei, ohne daß irgendwelche Symptome auftraten. Die Tiere erwachten aus der Narkose, als ob nichts geschehen wäre. Auch mit anderen Anästheticis wie Chloräthyl, Alkohol, Urethan und Chloral ließ sich die tödliche Wirkung der Reinjektion hinausschieben.

Auch in der neuesten Zeit sind des öfteren Versuche gemacht worden, nach denen es gelungen sein soll, aus therapeutisch wichtigen Seris die anaphylaktische Komponente zu entfernen. In der Mehrzahl der Fälle wurde dieses Ziel zu erreichen gesucht durch stärkere oder schwächere chemische Eingriffe, und es sind auch nach dieser Richtung hin eine ganze Reihe von Patenten erteilt worden, die in der Hauptsache zum Ziele haben, die Antitoxine möglichst eiweißarm darzustellen und von der Mehrzahl der als schädlich erkannten Serumeiweißstoffe zu befreien.

Da wir infolge der Unzulänglichkeit unserer Untersuchungsmethoden und der meist großen Labilität der in Frage stehenden Antikörper auch heute noch nicht imstande sind, irgendetwas Sicheres über die Natur dieser Stoffe auszusagen, war es von Interesse, durch einen Versuch zu entscheiden, ob es überhaupt möglich sei, durch chemische Eingriffe die anaphylaktischen Substanzen aus dem Serum zu entfernen, ohne gleichzeitig die gesamten Eiweißstoffe und mit ihnen die Antitoxine entfernen zu müssen.

Zu diesem Zwecke wurde mit Hilfe des Hofmeisterschen[1]) Aussalzungsverfahrens mittels Ammoniumsulfat normales Pferdeserum in die Globuline und in die Albumine zerlegt. Die bei der Fällung der Serumeiweißstoffe durch Ammoniumsulfat sich ergebenden Gesetzmäßigkeiten haben die chemische Einheitlichkeit der Albumine und Globuline erwiesen. Durch öfteres Wiederauflösen und Ausfällen der erhaltenen Fraktionen gelingt es also, die Globuline und Albumine als einheitliche Stoffe von chemisch differenzierbarem Charakter zu gewinnen.

Mit diesen beiden Serumfraktionen und mit dazugehörigem nativen, normalen Pferdeserum wurde eine Serie von 9 Meerschweinchen von durchschnittlich 250 g Gewicht subcutan sensibilisiert, und zwar erhielten je 3 Tiere die $^1/_{100}$ ccm Normalpferdeserum entsprechende Menge Globulin, je weitere 3 Tiere dieselbe Menge Albumin und der Rest $^1/_{100}$ ccm natives Pferdeserum. Nach einer Inkubationszeit von 20 Tagen wurden die Tiere reinjiziert. Die Reinjektion geschah durch intravenöse Einverleibung von 0,5 ccm Normal-Pferdeserum, der dieser Menge entsprechenden Lösung von Albumin resp. Globulin.

Wie zu erwarten war, gingen die mit den Homologen reinjizierten Tiere innerhalb weniger Minuten unter anaphylaktischen Erscheinungen zugrunde; ferner ergab sich, daß auch die kreuzweise reinjizierten Tiere, d. h. die mit Vollserum sensibilisierten und mit Globulin resp. Albumin nachbehandelten Tiere und umgekehrt die mit den Fraktionen vorbehandelten und mit Vollserum nachbehandelten Tiere ausnahmslos unter anaphylaktischen Erscheinungen eingingen. Bei den mit der Globulinfraktion sensibilisierten Tieren trat nur eine geringe Verzögerung des Todes ein.

Da die für den vorstehend beschriebenen Versuch benutzten Präparate schon längere Jahre gelagert hatten, wurde durch erneute Darstellung der Globulin- und Albuminfraktion nach einer anderen Methode der Versuch wiederholt.

Ausgehend von der Erwägung, daß Substanzen um so reiner und einheitlicher zu erhalten sind, je mehr sie sich der Krystallform nähern, wurde versucht, nach der Methode von Gürber und Pemsel[2]) aus Normal-Pferdeserum krystallisiertes

[1]) Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 20, 411 u. 426 (Kauder und Pohl).

[2]) Gürber und Pemsel, Dissert. Straßburg 1899.

Serumalbumin herzustellen. Die entsprechende Globulinfraktion in Krystallform zu gewinnen, ist bislang nicht gelungen.

Pferdeblutserum wurde mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, nach mehrstündigem Stehen vom Niederschlage abfiltriert und zum globulinfreien Filtrat $^{n}/_{5}$-Schwefelsäure bis zur Opalescenz zugefügt. Hierzu sind für je 100 ccm Filtrat etwa 7 ccm Schwefelsäure nötig. Beim Stehen schieden sich aus dem Filtrat allmählich krystallähnliche Massen ab, die nach einmaligem Wiederauflösen und Auskrystallisieren nach Zusatz von Ammoniumsulfat und Schwefelsäure gereinigt wurden. Die Versuche, durch wiederholte Umkrystallisation eine weitere Reinigung zu erzielen, schlugen fehl, da die Krystalle alsbald amorph wurden.

Die durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat erhaltene Globulinfraktion wurde ebenfalls zwecks weiterer Reinigung mehrfach wieder aufgelöst und ausgefällt. Mit den nach dieser Methode erhaltenen Globulin- und krystallisierten Albuminfraktionen und dem dazugehörigen nativen Vollserum wurde der obige Sensibilisierungsversuch an 9 Meerschweinchen wiederholt. Das Resultat bei der Reinjektion nach 20 Tagen war das gleiche wie beim ersten Versuche.

Hieraus ist der Schluß zu ziehen, daß es durch Entfernung eines Teiles der Eiweißstoffe aus einem beliebigen, therapeutisch zu verwendenden Heilserum, das sich gegenüber den befolgten Aussalzungsverfahren natürlich nicht anders verhält als normales Pferdeserum, nicht gelingt, die anaphylaktische Komponente aus dem Serum herauszuschaffen, da sämtliche als einheitliche Individuen auftretenden Eiweißstoffe im anaphylaktischen Sinne gleichartig reagieren.

Die Anaphylaxie auszuschalten dürfte demnach erst dann gelingen, wenn der Beweis erbracht wäre, daß erstens die Antitoxine keine Eiweißsubstanzen wären, und wenn zweitens sämtliche Eiweißstoffe des Serums ohne Schädigung der Antitoxine entfernt werden könnten. Da es aber bis heute nicht gelungen ist, eiweißfreie Antitoxine herzustellen, so können auch sämtliche einschlägigen Versuche, ein antitoxinhaltiges Präparat zu liefern, das keine Anaphylaxie hervorruft, nicht zum Ziele führen.

Zur Frage der Glykokollsynthese im Organismus.

Von

Renpei Sassa (Tokio).

(Ausgeführt unter der Leitung des a. o. Prof. Otto von Fürth im Physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1913.)

Aus den Untersuchungen zahlreicher Autoren geht unzweifelhaft hervor, daß, wenn der Organismus eines Pflanzenfressers mit Benzoesäure überschwemmt wird, ein nicht unerheblicher Bruchteil des Gesamtstickstoffs ($^1/_3$ oder mehr) in Form von Hippursäure ausgeschieden wird[1]).

Es erscheint ausgeschlossen, daß die geringen im Eiweißmolekül präformierten Glykokollmengen ausreichen könnten, um diese Aminosäure zur Hippursäuresynthese zu liefern. Hat doch z. B. Wiechowski, der bei einigen seiner Kaninchenversuche mehr als die Hälfte des beim Eiweißzerfall auftretenden Gesamtstickstoffs als Glykokoll zum Vorschein kommen sah, den Eindruck gewonnen, daß solche Tiere gewissermaßen unerschöpflich Glykokoll produzieren, wenn ihr Organismus in systematischer Weise mit Benzoesäure überschwemmt wird.

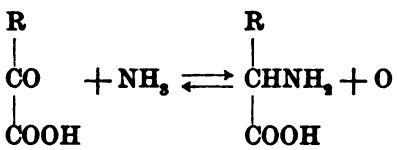
Über die chemischen Vorgänge der Glykokollsynthese im Organismus sind wir noch nicht unterrichtet. E. Friedmann[2]), der bei seinen Durchblutungsversuchen eine Neubildung des Glykokolls unter der Einwirkung der Benzoesäure in der Kaninchenleber wahrscheinlich gemacht hat, weist auf die Möglich-

---

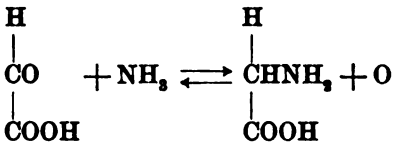
[1]) Vgl. Literatur, insbesondere die Arbeiten von Magnus-Levy, Wiechowski, Ringer, Abderhalden, Epstein und Bookman, bei O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 2, 109, 1913.

[2]) E. Friedmann und H. Tachau (I. med. Klinik, Berlin), diese Zeitschr. 35, 88, 1911.

keit hin, daß vielleicht die reaktionsfähige Glyoxylsäure als Zwischenprodukt bei der Glykokollsynthese in Betracht kommen könnte. Nachdem die wichtigen Untersuchungen von Knoop, Embden und ihren Mitarbeitern zahlreiche Anhaltspunkte für eine sich im Organismus vollziehende Synthese von Aminosäure aus α-Ketonsäuren und Ammoniak nach dem Schema



geliefert haben[1]), wäre eine Glykokollsynthese aus Glyoxylsäure und Ammoniak



nur als ein spezieller Fall dieses biochemischen Vorganges anzusehen.

Ich bin daher auf Aufforderung von Prof. v. Fürth daran gegangen, festzustellen, ob irgendwelche Anhaltspunkte dafür vorhanden sind, daß der Organismus tatsächlich eine derartige Synthese des Glykokolls aus Glyoxylsäure und Ammoniak zu vollziehen vermag.

1. Versuch über Glykokollsynthese im lebenden Organismus.

Wir wählten folgende Versuchsanordnung: Ein kräftiges männliches Kaninchen wurde mit Grünfutter (Karotten) gefüttert. Es erhielt am 2., 4. und 6. Versuchstage subcutan je 1,0 g Benzoesäure pro 1 kg Körpergewicht in der Form des Natriumsalzes, außerdem am 4. Tage (Haupttag) 1,0 g Glyoxylsäure, mit Natronlauge oder Ammoniakwasser neutralisiert. Den Harn grenzten wir jeden Tag zur gleichen Stunde (direkt vor der Einspritzung) mit dem Katheter ab und bestimmten die Menge: 1. des Gesamtstickstoffs, 2. des Hippursäurestickstoffs in der durch Ausschütteln mit Essigäther ge-

[1]) Vgl. Literatur: O. v. Fürth, Probleme der physiol. u. pathol. Chem. 2, 462, 464.

wonnenen Harnfraktion, 3. des Aminosäurestickstoffs, der im Harne nach Ausschütteln mit Essigäther zurückgeblieben war.

Der Gesamt-N wurde, wie gewöhnlich, nach Kjeldahl festgestellt. Der Hippursäure-N wurde nach Abderhalden und Hirsch[1]) ermittelt, indem man den Harn 6 mal mit Essigäther ausschüttelte und die Gesamt-N-Menge in der so gewonnenen Essigätherfraktion nach Kjeldahl bestimmte. Diese Methode wurde ab und zu durch die Formoltitration kontrolliert; (der Essigätherauszug wurde nämlich nach Henriques und Sörensen[2]) mit HCl gespalten und mit Formol titriert). Beide Methoden gaben vollständig übereinstimmende Resultate. Der Amino-N wurde nach der Formoltitrationsmethode von Henriques und Sörensen[3]) in dem durch Ausschütteln mit Essigäther von Hippursäure befreiten Harn bestimmt.

Die Glyoxylsäure (Schuchardt), ein dunkelbrauner dicker Sirup, wurde folgendermaßen zur Injektion bereitet: Eine gewogene Menge der Säure wurde mit verdünnter Natronlauge gegen Lackmuspapier neutralisiert, oder aber die freie Säure mit Ammoniak versetzt und der Überschuß von Ammoniak durch einen Luftstrom bei Zimmertemperatur beseitigt.

1,0 g Glyoxylsäurepräparat zeigte eine 6,8 ccm n-NaOH entsprechende Titrationsacidität. Dieses Präparat muß daher 62,6% der reinen Säure $\begin{matrix} HC<OH \\ | \quad\ OH \\ COOH \end{matrix}$ enthalten haben.

Benzoesaures Natrium wurde nach Wiechowski[4]) in der Form einer 4%igen wässerigen Lösung subcutan unter die Rückenhaut unter streng aseptischen Kautelen eingeführt.

Der Harn wurde, um die Zersetzung der Hippursäure in ihre Komponenten nach Möglichkeit zu verhindern, in einen Behälter gesammelt, der vorher mit Essigsäure und Toluol beschickt worden war.

Ergebnisse der Versuche siehe Tabellen I bis IV.

Nach den nachstehenden Tabellen war die Gesamt-N-Menge an den Injektionstagen regelmäßig größer als an den dazwischenliegenden Tagen. Sie war aber am Haupttage (nach Injektion der Benzoesäure im Verein mit Glyoxylsäure) meist kleiner als an den übrigen Injektionstagen (nach Benzoesäureapplikation allein). Die Glyoxylsäure scheint also den Eiweißzerfall nicht wesentlich zu vermehren.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 78, 299, 1912; Analyse des Harns, 11. Aufl., S. 828.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 135.

[3]) Arbeitsmethoden 6, 266 bis 277, 1912. — Neuberg, Der Harn 1, 578.

[4]) Wiechowski, Beiträge VII. S. 225.

Tabelle I.
(Kaninchen.)

Tag	Futter	Zufuhr subcutan	Harnmenge	Gesamt-N (G)	Hippursäure-N (H)		Aminosäure-N (A)		$H+A$		Bemerkungen
					absolut	$\frac{H}{G}\times 100$	absolut	$\frac{A}{G}\times 100$	absolut	$\frac{H+A}{G}\times 100$	
			ccm	g	g	%	g	%	g	%	
1.	200 g Karotten	—	65	1,069	0,019	1,7	0,039	3,7	0,058	5,4	Körpergew. 2,250 kg
2.	do.	2,7 g Natr. benzoic. (1,0 g Acid. benzoic. pro 1 kg)	135	1,581	0,064 [0,064] [1]	4,1	0,076	4,8	0,140	8,9	
3.	do.	—	92	1,088	0,023	2,1	0,050	4,6	0,073	6,7	
4.	do.	2,7 g Natr. benzoic. + 1,0 g Glyoxylsäure (mit NaOH neutralis.)	192	1,528	0,202	13,2	0,054	3,5	0,256	16,7	
5.	do.	—	131	1,138	0,029	2,6	0,056	4,9	0,085	7,5	
6.	do.	2,7 g Natr. benzoic.	244	1,709	0,040	2,3	0,235	13,8	0,275	16,1	[0,279] [2]
7.	do.	—	100	1,121	0,022	2,0	0,059	5,2	0,081	7,2	
8.	do.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Körpergew. 2,170 kg

[1]) Nach Henriques und Sörensen.

[2]) Gesamtmenge der Benzoesäure (nach Hryntschak, diese Zeitschr. **43**, 318) beträgt an diesem Tage 2,430 g, entsprechend 0,279 g Glykokoll-N.

Tabelle II. (Kaninchen.)

Tag	Futter	Zufuhr subcutan	Harnmenge ccm	Gesamt-N (G) g	Hippursäure-N (H) absolut g	Hippursäure-N (H) $\frac{H}{G}\times 100$ %	Aminosäure-N (A) absolut g	Aminosäure-N (A) $\frac{A}{G}\times 100$ %	$H+A$ absolut g	$H+A$ $\frac{H+A}{G}\times 100$ %	Bemerkungen
1.	300 g Karotten	—	142	0,875	0,018	2,1	0,025	2,9	0,043	4,9	Körpergew. 3,250 kg
2.	110 g „	3,9 g Natr. benzoic. (1,0 g Acid. benzoic. pro 1 kg)	132	1,117	0,168	15,0	0,026	2,3	0,194	17,3	
3.	150 g „	—	110	0,878	0,030	3,4	0,014	1,6	0,044	5,0	
4. (Haupttag)	80 g „	3,9 g Natr. benzoic. + 1,0 g Acid.glyoxyl. (mit NaOH neutralis.)	150	0,946	0,197	20,8	0,028	3,0	0,225	23,8	
5.	50 g „	—	53 + α	(0,695)	(0,018)	2,6	(0,021)	3,0	(0,039)	5,6	
6.	—	3,9 g Natr. benzoic.	10	—	—	—	—	—	—	—	Nachmittags tot. Körpergew. 2,800 kg

Tabelle III. (Kaninchen.)

Tag	Futter	Zufuhr subcutan	Harnmenge ccm	Gesamt-N (G) g	Hippursäure-N (H) absolut g	Hippursäure-N (H) $\frac{H}{G}\times 100$ %	Aminosäure-N (A) absolut g	Aminosäure-N (A) $\frac{A}{G}\times 100$ %	$H+A$ absolut g	$H+A$ $\frac{H+A}{G}\times 100$ %	Bemerkungen
1.	250 g Karotten	—	214	1,032	0,031	3,0	0,044	4,3	0,075	7,3	Körpergew. 2,800 kg
2.	250 g „	2,7 g Natr. benzoic. (0,8 g Acid. benzoic. pro 1 kg)	178	1,692	0,122	7,2	0,035	2,1	0,157	9,3	
3.	250 g „	—	278	1,272	0,024	1,9	0,060	4,7	0,084	6,6	
4. (Haupttag)	200 g „	2,7 g Natr. benzoic. + 1,0 g Acid.glyoxyl. (mit NaOH neutralis.)	212	2,242	0,217	9,7	0,048	2,1	0,265	11,8	Körpergew. 2,550 kg
5.	100 g „	—	140	1,338	0,030	2,2	0,036	2,7	0,066	4,9	
6.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Am Morgen tot. Körpergew. 2,500 kg

Tabelle IV.

(Kaninchen.)

Tag	Futter	Zufuhr subcutan	Harnmenge ccm	Gesamt-N (G) g	Hippursäure-N (H) absolut g	Hippursäure-N (H) $\frac{H}{G}\times 100$ %	Aminosäure-N (A) absolut g	Aminosäure-N (A) $\frac{A}{G}\times 100$ %	$H+A$ absolut g	$H+A$ $\frac{H+A}{G}\times 100$ %	Bemerkungen
1.	300 g Karotten	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Körpergew. 2,900 kg
2.	do.	3,4 g Natr. benzoic. (1,0 g Acid. benzoic. pro 1 kg)	149	1,210	0,121	10,0	0,035	2,9	0,156	**12,9**	
3.	do.	—	200	0,838	0,014	1,7	0,036	4,3	0,050	6,0	
4.	do.	3,4 g Natr. benzoic. +1,0 g Acid.glyoxyl. (mit NH_3 neutralis.)	185	1,048	0,179	17,0	0,033	3,1	0,212	**20,1**	
5.	do.	—	187	0,869	0,026	3,0	0,039	4,5	0,065	7,5	Körpergew. 3,000 kg
6.	do.	3,4 g Natr. benzoic.	200	1,367	0,168	12,2	0,049	3,6	**0,217**	**15,8**	
7.	—	—	298	0,866	0,017	2,0	0,038 [0,022][1])	4,4	0,055	6,4	Körpergew. 2,750 kg

[1]) **Polypeptid-N-Menge.**

Die Menge des Amino-N, der nicht gebunden, sondern in freiem Zustande ausgeschieden wurde, blieb immer annähernd konstant und wurde nicht durch die Injektion beeinflußt. Die große Menge von Amino-N, die beim 1. Versuche am 6. Tage ermittelt wurde, kam zweifellos infolge Spaltung der ausgeschiedenen Hippursäure in Glykokoll und Benzoesäure zustande, was man leicht aus der gleichzeitig ausgeschiedenen Benzoesäuremenge, die nach der Hryntschakschen Methode bestimmt wurde, erschließen kann.

Was nun aber die Menge des Hippursäure-N betrifft, so war die Menge desselben am Haupttage seiner absoluten Menge nach auch im Verhältnisse zum Gesamt-N um ein wenig größer als an Tagen der einfachen Benzoesäuredarreichung. Doch ist die Differenz allzu unbedeutend, um einen Rückschluß auf eine direkte Bildung des Glykokolls aus der einverleibten Glyoxylsäure zu gestatten. Beim Vergleich des Natrium- und Ammoniumsalzes der Glyoxylsäure war kein Unterschied zugunsten des letzteren nachweisbar, d. h. die mit der Glyoxylsäurekomponente gleichzeitig in den Organismus eingeführte Ammoniakkomponente übte keinen Einfluß auf die Bildung des Glykokolls im Organismus aus.

Unsere Versuche geben also keinen bestimmten Anhaltspunkt für die Annahme, daß der Organismus befähigt sei, eine Glykokollsynthese aus eingeführter Glyoxylsäure und aus Ammoniak zu vollziehen.

2. Organbreiversuche über Glykokollbildung aus zugesetzter Glyoxylsäure.

Aus Untersuchungen über die fermentative Veränderung der Glyoxylsäure durch Organbrei, die Schloß[1]) sowie Granström[2]) in Hofmeisters Laboratorium ausgeführt haben, geht hervor, daß Organbrei Fermente enthält (Glyoxylasen), die befähigt sind, Glyoxylsäure in großem Umfange zu zerstören. So wurde beobachtet, daß bei Zusatz von 4 g glyoxylsauren Natriums zu 1 kg frischen Leberbreis innerhalb 4 Stunden bei Körpertemperatur die Glyoxylsäure restlos verschwand. Es

[1]) Schloß, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 445, 1907.
[2]) Granström, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 214, 1908.

wurde weiterhin festgestellt, daß die Glyoxylsäurezerstörung sich auch bei Abwesenheit von Sauerstoff vollzieht und daß dieselbe nicht zum Auftreten von Oxalsäure führt.

Es lag daher der Gedanke immerhin nahe, ob nicht vielleicht bei der fermentativen Zerstörung der Glyoxylsäure im Organbrei sich dieselbe unter Mitwirkung des bei der Autolyse auftretenden Ammoniaks zu Glykokoll umgestaltet.

Tabelle V.

Versuch	Leberbrei g	Zusatz	Digest.-dauer Std.	Indolreaktion vor der Digestion	Indolreaktion nach der Digestion	Formoltitrierbare N-Menge absol. g	Formoltitrierbare N-Menge Zunahme d. Zusatz
1	100	—				0,164	
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NaOH neutralisiert	4	+++	+	0,164	± 0
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NH_3 neutralisiert		+++	+	0,179	+ 0,015
2	100	—				0,398	
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NaOH neutralisiert	6		±	0,381	− 0,017
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NH_3 neutralisiert			±	0,448	+ 0,050
3	100	—				0,269	
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NaOH neutralisiert	5		+	0,306	+ 0,037
	100	1 g Acid glyoxyl. mit NH_3 neutralisiert			+	0,251	− 0,018

Um diese Möglichkeit experimentell zu prüfen, gingen wir nun folgendermaßen vor:

Ganz frische Schweineleber wurde von groben Bindegewebsstücken befreit, in der Fleischhackmaschine zerkleinert und 300 g des Leberbreies mit dem gleichen Gewichte Quarzsand verrieben. Das Gemisch wurde in 3 gleiche Teile geteilt und jeder Anteil mit 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Zur ersten Portion dieses Leberbreis wurde 1 g mit Natronlauge neutralisierter Glyoxylsäure hinzugefügt. Die zweite Portion versetzte ich mit 1 g Glyoxylsäure, die statt mit Natronlauge mit Ammoniak neutralisiert worden war. Die dritte Portion des Organbreis wurde nur mit so viel physiologischer Kochsalzlösung versetzt, daß alle 3 Anteile gleiches Volumen besaßen. Die drei Portionen wurden nun unter wiederholtem Umschütteln 4 bis 6 Stunden lang bei Brutofentemperatur gehalten, nach deren Ablauf die Glyoxylsäure (wie nach dem Ausfall der Eppingerschen Indolschwefelsäure-Reaktion ge-

schlossen wurde) aus dem Organbrei größtenteils verschwunden war. Nunmehr wurde jede Portion durch Kochen bei schwach saurer Reaktion auskoaguliert, wiederholt mit kochendem Wasser nachgewaschen und in den Filtraten der Aminosäure-N durch Formoltitration ermittelt. Zu diesem Zwecke wurde das klare Filtrat zunächst mit einem Überschuß von Phosphorwolframsäure gefällt, die Phosphorwolframsäure aus dem Filtrate durch Baryt, der Baryt durch Kohlensäure entfernt, das Filtrat schließlich mit Salzsäure neutralisiert, am Wasserbade eingeengt und in einem Meßkolben auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. In einem aliquoten Teile des Filtrats wurde nunmehr der Amino-N durch Formoltitration nach Henriques und Sörensen quantitativ bestimmt.

Wenn 1 g des käuflichen Glyoxylsäurepräparats mit einem Gehalt von 62% an reiner Säure vollständig zu Glykokoll umgewandelt worden wäre, wäre eine Vermehrung des Amino-N um 0,095 g zu gewärtigen. Wie aus obiger Tabelle hervorgeht, konnten wir aber keine regelmäßige, außerhalb der Fehlergrenze liegende Amino-N-Zunahme in den mit Glyoxylsäure digerierten Proben feststellen.

Für die Annahme einer synthetischen Glykokollneubildung im Leberbrei auf Kosten zugesetzter Glyoxylsäure liegt sonach vorderhand kein Anhaltspunkt vor.

Zusammenfassung.

Für die Annahme, daß der Säugetierorganismus befähigt sei, aus Glyoxylsäure und Ammoniak Glykokoll auf synthetischem Wege neu aufzubauen, hat sich vorderhand weder bei Überschwemmung lebender Kaninchen mit glyoxylsaurem Natron bzw. Ammon (bei gleichzeitiger Benzoesäurezufuhr), noch aber bei Digestion dieser Salze mit Leberbrei bei Körpertemperatur ein bestimmter Anhaltspunkt ergeben.

Über den Oxybuttersäuregehalt der Organe normaler und diabetischer Individuen.

Von

Renpei Sassa (Tokio).

(Ausgeführt unter der Leitung des a. ö. Prof. Otto von Fürth im Physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. Dezember 1913.)

I. Einleitung.

Ein systematisches Studium der Rolle und der Bedeutung der sog. Acetonkörper bei den Vorgängen des normalen und pathologischen Stoffwechsels setzt naturgemäß die Kenntnis ihrer Verteilung und Anhäufung in den verschiedenen Organen unter wechselnden Bedingungen voraus. Während aber ungezählte Untersuchungen über die Ausscheidung der Acetonkörper vorliegen, haben sich nur wenige Forscher bemüht, über die Aufstapelung der Acetonkörper im Organismus Aufschluß zu erlangen.

Über den leicht zu bestimmenden Acetongehalt des Blutes und der Organe liegen allerdings einige Angaben vor. So schloß Geelmuyden[1]) aus dem Umstande, daß er die Leber von Diabetikern acetonärmer fand als andere Organe, daß dieselbe bei der Zerstörung der Acetonkörper eine besonders wichtige Rolle spiele. Dagegen glaubten Halpern und Landau[2]) aus dem Vergleiche des Acetongehalts der Organe normaler, hungernder und phlorizindiabetischer Kaninchen folgern zu dürfen, daß insbesondere die Muskeln im großen Maßstab Aceton verbrennen.

---

[1]) Geelmuyden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 140, 1904.

[2]) Halpern und Landau, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 3, 466, 1906.

Es liegt auf der Hand, daß Untersuchungen dieser Art nicht den eigentlichen Kernpunkt des Problems treffen können. Denn nicht das Aceton, sondern die Oxybuttersäure beherrscht, der gegenwärtigen Auffassung entsprechend, den Symptomenkomplex der „Acidose".

Soviel ich weiß, ist aber A. Magnus-Levy[1]) der erste und einzige, der den Oxybuttersäuregehalt der Organe von an Coma diabeticum verstorbenen Individuen einigermaßen systematisch untersucht hat. Er fand einen Gehalt von 1,3 bis 2,2‰ (Blut 2,2, Magensaft 1,5, Leber 1,4, Milz 1,7, Muskel 1,3‰). Minkowski[2]) fand 2,2‰, Hugounenq[3]) gar 4,3‰ Oxybuttersäure im Diabetikerblute.

Den Resultaten Magnus-Levys haftet insofern ein Element der Unsicherheit an, als derselbe, dem damaligen Stande der Methodik entsprechend, die Oxybuttersäure einfach auf Grund der Linksdrehung der sauren ätherischen Organextrakte polarimetrisch bestimmte und dabei auf die Anwesenheit anderer optisch-aktiver ätherlöslicher Substanzen in den Organextrakten keine Rücksicht nehmen konnte. Erst die Ausarbeitung eines direkten und exakten Oxybuttersäurebestimmungsverfahrens durch Shaffer[4]) hat die Möglichkeit einer genauen Oxybuttersäurebestimmung in den Organen angebahnt. Bekanntlich beruht dieses Verfahren darauf, daß die Oxybuttersäure in schwefelsaurer Lösung zum Sieden erhitzt und tropfenweise mit Kaliumbichromatlösung versetzt wird, wobei die Oxybuttersäure über Acetessigsäure in Aceton, Kohlensäure und Wasser zerfällt. Das überdestillierte Aceton wird nach Messinger maßanalytisch mit Jod und Thiosulfat bestimmt.

Der Umstand jedoch, daß Oxybuttersäure und Milchsäure in tierischen Organen und Flüssigkeiten nebeneinander auftreten können, die letztere aber bei der Oxydation in saurer Lösung ebenfalls jodbindende Substanz (Acetaldehyd) liefert, gestattet es nicht ohne weiteres, das Shaffersche Verfahren

---

[1]) A. Magnus-Levy, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 42, 149, 1899.

[2]) Minkowski, Mitteil. a. d. Königsberger med. Klin.; zitiert nach Waldvogel, Die Acetonkörper. S. 61. Stuttgart 1903.

[3]) Hugounenq, Ref. Jahresber. d. Tierchem. 17, 430, 1887.

[4]) Shaffer, Journ. of Biolog. Chem. 5, 211, 1908.

in seiner ursprünglichen Form auf die Organanalyse zur Anwendung zu bringen. Es erfordert dies vielmehr einen Vorgang, der kürzlich im hiesigen Institute von Mondschein[1]) ausgearbeitet worden ist. Dabei wird das nach Shaffer erhaltene Destillat, das neben dem Aceton auch (der Milchsäure entstammenden) Aldehyd enthält, durch Kochen mit Wasserstoffsuperoxyd und Lauge vom Aldehyd vollständig befreit, das Aceton neuerlich überdestilliert und nach Messinger titrimetrisch bestimmt.

Neuerdings sind auch die Bemühungen, ein Bestimmungsverfahren für die Oxybuttersäure auf die Abspaltung von Crotonsäure unter Einwirkung starker Schwefelsäure zu basieren, zu einem gewissen Abschlusse gelangt. B. O. Přibram[2]) sowie Ryffel[3]) fanden nämlich, daß man anscheinend brauchbare Resultate erhält, wenn man die Crotonsäure nicht alkalimetrisch, sondern auf Grund ihres Bromadditionsvermögens bestimmt.

Ich bin nun, auf Prof. v. Fürths Veranlassung, daran gegangen, die beiden gegenwärtig best fundierten Methoden der Oxybuttersäurebestimmung, nämlich einerseits das Shaffersche Verfahren (unter Verwertung der Erfahrungen Mondscheins), andererseits das Bromadditionsverfahren für ein systematisches Studium der Anhäufung und Verteilung der Oxybuttersäure in Organen normaler und diabetischer Tiere und Menschen zu verwerten.

II. Methodische Versuche.

1. Vergleich der Shafferschen Oxybuttersäurebestimmungsmethode und des Bromadditionsverfahrens.

Ich stellte zunächst eine Oxybuttersäurelösung her, indem ich 11,834 g eines Kahlbaumschen Präparates in 1 l Wasser löste.

20 ccm dieser Lösung gaben bei der Titration mit Phenolphthalein eine Acidität entsprechend 10,8 ccm $^n/_{10}$-NaOH = 0,112 g Oxybuttersäure. Demnach würde dieses Präparat nur etwa zur Hälfte aus Oxybuttersäure bestehen.

---

[1]) Mondschein, diese Zeitschr. **42**, 100, 1912.

[2]) B. O. Přibram (Klinik Fr. Kraus), Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **10**, 279, 1912.

[3]) Ryffel, Journ. of Physiol. **32**; Physiol. Soc. **56**. Mai 1905.

20 ccm derselben Lösung gaben bei der **Bestimmung nach Shaffer**: a) 0,1706 g, b) 0,1724 g Oxybuttersäure.

20 ccm derselben Lösung gaben nach dem **Bromadditionsverfahren nach Pribram**: a) 0,1721 g, b) 0,1726 g Oxybuttersäure.

Beide Bestimmungsmethoden, die auf ganz verschiedenen chemischen Prinzipien beruhen, gaben demnach vollständig übereinstimmende Resultate.

Das abweichende Ergebnis der Titration führte zu der Vermutung, daß ein Teil der Oxybuttersäure in unserem Präparate etwa in anhydridartiger Form vorhanden sein dürfte. Diese Vermutung fand auch tatsächlich ihre Bestätigung in dem Umstande, daß diese Oxybuttersäurelösung mit einer bestimmten Menge $^n/_{10}$-NaOH überneutralisiert, etwa 10 Minuten gekocht, abgekühlt und dann mit $^n/_{10}$-H_2SO_4 zurücktitriert, einen Aciditätswert ergab, der den mit den obigen chemischen Methoden erzielten Werten nahestand.

2. Überprüfung der Shaffer-Mondscheinschen Methode bei höherer Konzentration des Oxydationsmittels.

Wird das **Shaffersche** Verfahren auf Organextrakte, in denen sich neben der Oxybuttersäure größere Mengen oxydabler Substanzen finden, in seiner ursprünglichen Form angewandt ($K_2Cr_2O_7$ 0,5 % als Oxydationsmittel), so zieht sich die Dauer der Destillation, deren Ende durch das Ausbleiben der Jodoformprobe im Destillate gekennzeichnet erscheint, außerordentlich in die Länge. Um eine Abkürzung des Verfahrens zu erzielen, wurde festgestellt, daß man, ohne die Ausbeute an Aceton wesentlich zu schädigen, sehr wohl die $K_2Cr_2O_7$-Konzentration auf 1 bis 2 % steigern kann.

Versuch	Oxydable Substanzen	Stärke der Oxydationsmittel		Oxydation		Ausbeute an Oxybuttersäure	
		H_2SO_4	$K_2Cr_2O_7$ %	Menge des Destillats ccm	Dauer d. Destillation Std.	absolute Menge g	relative Menge %
1	20 ccm β-Oxybuttersäurelösung,	400 ccm von 4 % H_2SO_4	0,5	600	1½	0,1724	100,0
2	do.	do.	0,5	600	1½	0,1706	99,0
3	do.	15 ccm konz. H_2SO_4 + 500 ccm Wasser	0,5	600	1½	0,1713	99,4
4	do.	do.	1,0	500	1¼	0,1653	95,9
5	do.	do.	2,0	400	1	0,1626	94,3
6	do.	do.	2,0	400	1	0,1623	94,1
7	20 ccm Oxybuttersäurelösung	do.	0,5	1050	2¼	0,1685	97,7
8	0,5 g Traubenzucker, 0,1746 g Milchsäure	do.	1,0	800	1¾	0,1664	96,5
9		do.	2,0	600	1¼	0,1644	95,4

3. Brauchbarkeit des Shafferschen Verfahrens bei Gegenwart von Zucker.

Um festzustellen, ob bei Oxydation von Glucose mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat flüchtige ketonartige Substanzen auftreten, welche die Bestimmung stören, habe ich mehrere Versuche derart ausgeführt, daß ich 1 g Traubenzucker nach Shaffers Vorschrift oxydierte, die reichlich auftretenden Aldehyde durch Kochen mit Natriumhydroxyd und Wasserstoffsuperoxyd unschädlich machte, nunmehr neuerlich destillierte und das Destillat nach Messinger titrierte; es fand sich im Destillat nur 0,0012 bzw. 0,0007 g jodbindende Substanz (als Aceton berechnet). Es sind diese Ketonmengen so verschwindend klein, daß auf dieselben weiter keine Rücksicht genommen zu werden braucht.

4. Anwendung des Shaffer-Mondscheinschen Verfahrens auf die Bestimmung der Oxybuttersäure in Organextrakten.

Zur Beseitigung störender Substanzen empfiehlt sich eine Vorbehandlung der Organextrakte durch Fällung mit Bleiessig und Ammoniak nach Shaffer. Dagegen erwies sich die zeitraubende Extraktion der Oxybuttersäure mit Äther, wie besondere Versuche (s. u.) ergeben haben, als überflüssig. Das Verfahren gestaltet sich folgendermaßen:

Die abgewogene Menge (ca. 100 g) des frischen oder unter reinem Alkohol aufbewahrten Organbreies wird unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure viermal mit Wasser ausgekocht. Das klare Filtrat wird mit Sodalösung schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade eingedampft, wobei auf eine sorgfältige Entfernung etwa vorhandenen Alkohols zu achten ist. Die eingeengte Flüssigkeit wird in einem $^1/_2$-Liter-Meßkolben übertragen, mit überschüssigem Bleiessig von Kahlbaum (bei normalen Geweben ca. 25 ccm, bei diabetischen mehr) und 10 ccm konzentrierten Ammoniaks versetzt, mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt, umgeschüttelt und filtriert. 100 bis 400 ccm des klaren, farblosen Filtrates werden im Destillierkolben mit Wasser auf 500 ccm verdünnt; man fügt sodann etwas Bimstein sowie 15 ccm konzentrierter Schwefelsäure hinzu und erhitzt zur Siedehitze. Man bedient sich eines einfachen Destillationsapparates mit aufgesetztem Tropftrichter und läßt den Vorstoß in eine mit 50 ccm Wasser beschickte Vorlage eintauchen. Sobald die Luft aus dem Apparate aus-

getrieben ist (was man am Zurücksteigen des Wassers aus der Vorlage in den Vorstoß erkennt) beginnt man mit der Oxydation, indem man Kaliumbichromatlösung 0,5 bis 1,0 % tropfenweise zur lebhaft siedenden Flüssigkeit zufließen läßt. Das Ende der Operation erkennt man am Ausbleiben der Jodoformreaktion in einer Probe des zuletzt aufgefangenen Destillates. In der Regel erscheint die Operation nach 1 bis 2 Stunden, nachdem 400 bis 1000 ccm Flüssigkeit überdestilliert sind, beendigt.

Zu je 300 ccm des gesamten Destillates werden 10 ccm 10 %iges NaOH und 12 %iges H_2O_2 sowie etwas Bimstein zugesetzt und das Gemisch unter einem gut wirkenden Rückflußkühler 30 Minuten in schwachem Sieden erhalten. Nach vollständiger Abkühlung wird der Kühler ausgespült und die ganze Flüssigkeit ohne Verluste in einen geräumigen Destillationskolben übertragen. Man destilliert nun wiederum unter Vorlage von 100 ccm kalten Wassers, bis kein Aceton mehr übergeht (ca. 200 ccm Destillat).

Die Acetonbestimmung erfolgt durch Titration mit $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung nach Messinger, wobei 1 ccm der verbrauchten Menge von $^n/_{10}$-Jodlösung 0,000967 g Aceton bzw. 0,001734 g Oxybuttersäure entspricht.

Versuch	Vorgelegte Oxybuttersäure (zu 100 g Pferdefleisch) g	Gefundene Oxybuttersäure (nach Abzug der in 100 g Fleisch präformierten Oxybuttersäuremenge)	
		g	Prozente des geford. Wertes
1	0,1724	0,1626	94,3
2	0,1724	0,1620	94,0
3	0,1724	0,1681	97,5
4	0,1724	0,1641	95,2

5. Anwendung der Bromadditionsmethode zur Bestimmung der Oxybuttersäure in Organextrakten.

Die Bromadditionsmethode, die nach meinen Versuchen der Oxydationsmethode ebenbürtig erscheint, beruht, wie schon erwähnt, auf der Überführung der Oxybuttersäure in Crotonsäure. Dieselbe ist von Ryffel[1]) sowie Shindo[2]) auf den

[1]) l. c.

[2]) Shindo, Neuberg, Harn 1, 263.

Harn sowie von B. O. Přibram[1]) auf das Blut angewandt worden.

Es hat sich nun herausgestellt, daß die Anwesenheit von Fett in den Organextrakten auch nach Beseitigung flüchtiger Fettsäuren eine wichtige Fehlerquelle bedeutet. Die Organfette liefern nämlich bei der Destillation mit starker Schwefelsäure im Destillate reichliche Mengen von bromaddierenden Substanzen (ungesättigten höheren Fettsäuren). Diese müssen aber natürlich vor der Titration vollkommen beseitigt werden.

Ich habe nun die Bromadditionsmethode in folgender Weise umgestaltet:

Eine abgewogene Menge (ca. 100 g) des fein zerkleinerten Organes wurde mit kochendem Wasser erschöpft. Die vereinigten Filtrate wurden bei schwach sodaalkalischer Reaktion auf dem Wasserbade zu Sirup eingeengt. Um nun diesen Rückstand in eine zur Ätherextraktion geeignete Form überzuführen, bediente ich mich eines von Shindo[2]) angegebenen Verfahrens: Der Rückstand wurde nämlich nach Ansäuern mit krystallisierter Phosphorsäure durch Kneten mit geglühter Kieselgur in ein trockenes Pulver übergeführt und dieses im Soxhletschen Apparate 12 bis 24 Stunden lang mit Äther extrahiert. Der Rückstand des Ätherextraktes wurde nach Entfernung des Äthers in ein wenig Wasser aufgenommen, in einen kleinen Destillierkolben übertragen und nunmehr der Destillation mit 58 bis 60%iger H_2SO_4 unterworfen. Aus dem meist opalescierenden Destillate müssen dann die mit der Crotonsäure übergegangenen hohen Fettsäuren beseitigt werden.

Zu diesem Zwecke wird das Destillat mit feingepulvertem Bariumhydroxyd alkalisch gemacht, der Barytüberschuß mit CO_2 beseitigt, das $BaCO_3$ mit einem kleinen Filter abfiltriert, nachgewaschen, das Filtrat sodann mit HCl angesäuert.

Nunmehr wird eine wässerige Bromlösung von bekanntem Titer bis zur bleibenden Gelbfärbung hinzugefügt und stark geschüttelt. Wenn die gelbe Färbung im Verlaufe von $^1/_4$ Stunde nicht mehr verschwindet, wird ein Körnchen Jodkalium zugefügt und das ausgeschiedene Jod mit $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung zurücktitriert[3]).

Die Verluste scheinen bei der Bromadditionsmethode etwas größer zu sein als bei der Oxydationsmethode, was auf die Schwierigkeit einer ganz vollständigen Ätherextraktion der Oxybuttersäure zurückzuführen sein dürfte.

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) Vgl. die Originalangabe B. O. Pribrams, l. c.

6. Sicherstellung des Vorkommens von Oxybuttersäure in normalen Geweben durch vergleichsweise Anwendung der Oxydations- und Bromadditionsmethode.

Kürzlich hat Mondschein[1]) in diesem Institute das Vorkommen einer geringen Menge Oxybuttersäure im normalen Muskelfleische wahrscheinlich gemacht.

Indem nun, wie aus der beifolgenden Tabelle zu ersehen ist, die beiden (auf ganz verschiedenen chemischen Prinzipien beruhenden) Methoden bei Anwendung auf normales Muskelfleisch vollständig übereinstimmende Resultate ergeben, wird das Vorkommen der Oxybuttersäure in normalen Organen jedem Zweifel entrückt.

Aus der Tabelle ist ferner zu entnehmen, daß die Resultate der Shafferschen Methode durch eine vorausgegangene Ätherextraktion nicht beeinflußt werden, diese sonach überflüssig erscheint.

Ferner ist zu ersehen, in wie hohem Maße die Resultate durch die Vernachlässigung der in das Destillat übergegangenen hohen Fettsäuren beeinträchtigt werden.

Angewandte Methode	Gefundene Oxybuttersäuremenge in 100 g Pferdefleisch			
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4
	g	g	g	g
1. Shaffer-Mondschein . .	0,0173	0,0164	0,0186	0,0147
2. Shaffer-Mondschein (mit Ätherextraktion kombiniert)	0,0167	0,0156	0,0186	—
3. Bromadditionsverfahren modifiziert (Beseitigung der hohen Fettsäuren)	—	—	0,0160	0,0141
4. Bromadditionsverfahren (Originalmethode nach B. O. Pfibram)	0,0354	0,0361	0,0399	—

III. Verteilung der Oxybuttersäure im Organismus.

1. Oxybuttersäuregehalt normaler Muskeln.

In nachfolgender Tabelle sind eine Reihe von Oxybuttersäurebestimmungen (nach der Shaffer-Mondscheinschen Methode ausgeführt) in den Muskeln verschiedener Säugetier-

[1]) Mondschein, diese Zeitschr. 42, 121, 1912.

arten zusammengestellt. Der Oxybuttersäuregehalt der Muskulatur ist offenbar ein ziemlich konstanter. Die gefundenen Werte für 100 g Fleisch variieren zwischen 0,009 und 0,021 g.

Tierart	Gefundene Oxybuttersäuremenge in 100 g Muskelmasse g
Pferd	0,0173 (durchschnittlich)
„	0,0210 (max.)
„	0,0087 (min.)
Rind	0,0205
Schwein	0,0123
Hund	0,0143 (durchschnittlich)
Mensch	0,0177

2. Verteilung der Oxybuttersäure im nichtdiabetischen Organismus.

Nachfolgende Tabelle gibt über die Verteilung der Oxybuttersäure im nichtdiabetischen Organismus Aufschluß. Es gelangten die Organe zweier normaler, durch Verblutung getöteter Hunde, sowie diejenigen eines Menschen zur Verarbeitung, der an Kehlkopfkrebs gelitten und durch Sturz aus dem Fenster ein Suicidium verübt hatte. Allem Anscheine nach ist die Verteilung der Oxybuttersäure im nichtdiabetischen Organismus eine ziemlich gleichmäßige.

Organ	Oxybuttersäuremenge in 100 g Substanz		
	Hund I g	Hund II g	Mensch g
Blut . . .	0,0134	0,0109	—
Muskel . .	0,0164	0,0121	0,0177
Leber . .	0,0186	0,0134	0,0189
Nieren . .	0,0144	0,0130	0,0186
Lungen . .	0,0168	0,0110	0,0125
Milz . . .	—	—	0,0105

3. Verteilung der Oxybuttersäure im Organismus phlorizindiabetischer Hunde.

Ich ging nunmehr daran, die Verteilung der Oxybuttersäure im Organismus phlorizindiabetischer Hunde zu studieren

Unter der Voraussetzung, daß ein gewisser Parallelismus zwischen der Anhäufung der Oxybuttersäure im Organismus

und der Ausscheidung derselben im Harne existieren dürfte, bemühte ich mich zunächst, mich über die Ausscheidungsverhältnisse der Oxybuttersäure bei regelmäßiger Phlorizinverabreichung zu orientieren.

Ich ließ die Versuchstiere (Hunde) zunächst 2 Tage hungern, (Wasser wurde verabreicht). Am 3., 4., 5., eventuell am 6. Versuchstage bekamen sie täglich morgens und abends eine subcutane Injektion von Phlorizin (Kahlbaum, gelöst in 1%iger Sodalösung). Im Harne wurde täglich die Summe von Aceton und Acetessigsäure sowie die Oxybuttersäure bestimmt. Erstere Bestimmung wurde nach Shaffer, letztere nach Shaffer-Mondschein vorgenommen.

Versuchstag	Futter	Einverleibte Phlorizinmenge pro Tag g	Harnmenge ccm	Zucker	Acetonkörper: Aceton + Acetessigsäure (als Aceton ausgedr.) g	Acetonkörper: Oxybuttersäure g	Bemerkungen
			Hund A ♀, 8,90 kg.				
1	—	—	173	—	0,0055	—	
2	—	—					
3	100 g Butter	3,0 (pro kg 0,34 g)	300	+	0,0340	0,0234	
4	100 g Butter (größtenteils erbrochen)	3,0	605	+	0,587	2,707	Benommen.
5	wenig Fleisch	1,5	1155	+	0,566	2,242	Benommen.
6	—	—	81	+	0,024	—	Tot.
			Hund B ♀, 7 kg.				
1	—	—	203	—	0,0065	—	
2	—	—					
3	100 g Speck + 100 g Fleisch	1,5 (pro kg 0,21 g)	verloren	+	—	—	
4	—	1,5	315	+	0,200	1,264	Kein Appetit.
5	—	1,5	450	+	0,194	1,297	do.
6	—	1,5	730	+	0,190	1,240	do.
7	100 g Speck + 100 g Fleisch	—	650	+	0,083	0,304	
8	gekochtes Fleisch	—	565	—	0,017	0,020	Ganz munter.

Aus den mitgeteilten Beobachtungen geht hervor, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen das Maximum der Oxybuttersäureausscheidung mit dem 2. oder 3. Phlorizintage zusammenfiel. Es stimmt dies mit Beobachtungen von

Marum[1]) sowie von Wolf und Osterberg[2]) überein. Die letzteren fanden einmal am 2., ein andermal am 3. und 4. Tag die stärkste Ausscheidung.

Was die Menge der ausgeschiedenen Acetonkörper im Harn hungernder, phlorizinvergifteter Hunde anbelangt, wird diese, außer von der einverleibten Phlorizinmenge, auch von individuellen Verhältnissen[3]) stark beeinflußt. Manche Hunde reagieren schon auf relativ kleine Phlorizingaben mit einer hochgradigen Acetonkörperausscheidung, während andere auf die gleiche Dosis wenig oder gar nicht reagieren. Übereinstimmend mit den Beobachtungen anderer Autoren an Menschen (vgl. u. a. Brugsch[4]) vermochte auch ich bei Hunden eine Beziehung der Acetonkörperausscheidung zum Umfange der Fettdepots zu konstatieren, insofern fette Hunde ceteris paribus im allgemeinen mit stärkerer Acidose reagieren als magere. Beifolgende Tabelle gibt darüber Aufschluß:

Der Einfluß der Individualität auf das Auftreten der Acidose.

		Geschlecht	Körpergewicht	Ernährungszustand	Phlorizinmenge pro Tag		Tag der größten Acetonkörperausscheidung	Harnmenge	Ausgeschiedene Acetonkörpermenge in g			
									Aceton + Acetessigsäure (als Aceton ausgedr.)		Oxybuttersäure	
			kg		abs.	pro kg		ccm	abs.	pro kg	abs.	pro kg
	Hund A	♀	8,9	fett	3,0	0,34	2. Inj.-Tag	605	0,587	0,066	2,707	0,305
	„ B_1	♀	7,0	„	1,5	0,21	3. „	450	0,194	0,028	1,297	0,186
	„ B_2	♀	6,4	„	2,5	0,39	3. „	322	0,481	0,075	3,194	0,499
	„ C	♀	11,6	sehr fett	3,6	0,30	3. „	1150	0,611	0,053	2,613	0,225
	„ D	♂	20,0	mittelmäßig	6,0	0,30	2. „	1280	0,192	0,010	0,643	0,032
	„ E	♂	12,0	fett	3,6	0,30	2. „	785	0,732	0,061	5,549	0,462
	„ F	♂	8,0	sehr mager	2,0	0,25	3. „	258	0,011	0,002	0,027	0,0034
	„ G	♂	13,2	mager	4,0	0,30	3. „	915	0,142	0,011	0,429	0,0325
Nach Wolf und Osterberg	Hund I		8,58		6,0	0,7	2. Inj.-Tag		0,7112	0,083	3,009	0,350
	„ II		12,0		6,0	0,5	3. „		0,4340		1,772	
					6,0	0,5	4. „	1030	0,4512	0,038	2,058	0,171

Um mich nun über die Oxybuttersäureverteilung im Organismus phlorizindiabetischer Hunde zu orientieren, habe ich

[1]) Marum, Beitr. z. chem. Physiol. und Pathol. 10, 105, 1907.
[2]) Wolf und Osterberg, Amer. Journ. of Physiol. 28, 71, 1911.
[3]) Geelmuyden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 281.
[4]) Brugsch, Zeitschr. f. experim. Pathol. 1, 426, 1906.

drei von meinen Versuchstieren auf der Höhe der Acidose durch Verblutung getötet und die Organe analysiert.

Beifolgende Tabelle gibt über den zeitlichen Verlauf der Acetonkörperausscheidung sowie über den Oxybuttersäuregehalt der auf der Höhe der Acidose getöteten Tiere Aufschluß.

Versuchstag	Futter	Einverleibte Phlorizinmenge pro Tag g	Harnmenge ccm	Zucker	Acetonkörper: Aceton + Acetessigsäure (als Aceton ausgedr.) g	Acetonkörper: Oxybuttersäure g	Bemerkungen
			Hund B_2 ♀, 6,4 kg.				
1	—	—	560	—	0,006	—	
2	—	—					
3	100 g Speck 50 g Fleisch	1,5	350	+	0,051	0,104	
4	—	2,0	510	+	0,140	0,822	
5	—	2,5	322	+	0,481	3,194	
6							Getötet.
			Hund C ♀, 11,6 kg.				
1	—	—	120	—	—	—	
2	—	—					
3	100 g Schmalz 100 g Fleisch	3,6	380	+	0,051	0,119	
4	do.	3,6	565	+	0,223	0,817	
5	—	3,6	1150	+	0,611	2,613	
6							Getötet.
			Hund D ♂, 20 kg.				
1	—	—	—		—	—	
2	—	—	—		—	—	
3	100 g Schmalz 100 g Fleisch	6,0	800	+	0,048	0,170	
4	do.	6,0	1280	+	0,192	0,643	
5	—	3,0	—	+	—	—	Getötet.

Oxybuttersäuregehalt in den Organen hungernder phlorizinvergifteter Hunde.

Organ	Oxybuttersäuremenge in 100 g Substanz: Hund B g	Hund C g	Hund D g
Blut . . .	0,0336	0,0234	0,0111
Muskel .	0,0314	0,0224	0,0139
Leber . .	0,0401	0,0248	0,0144
Nieren . .	0,0595	—	0,0175
Lungen . .	0,0359	0,0231	0,0141

Ein Blick auf die Tabellen lehrt uns, daß beim Hunde D, bei dem sich die Acidose innerhalb bescheidener Grenzen gehalten hatte, überhaupt keine abnorme Oxybuttersäureanhäufung in den Organen zu konstatieren war. Bei den beiden anderen Tieren, die reichlich Aceton, Acetessigsäure und Oxybuttersäure im Harne ausgeschieden hatten, wurden die Organe etwa doppelt so reich an Oxybuttersäure gefunden als unter normalen Verhältnissen. Auffallend ist beim Hunde B der hohe Oxybuttersäuregehalt der Leber und der Nieren. Als wesentliches Resultat dieser Versuchsreihe ergibt sich jedoch die Tatsache, daß die prompte Elimination der Acetonkörper durch die Nieren einer hochgradigen Anhäufung derselben in den Organen erfolgreich entgegenwirkt. Auf Grund meiner früher mitgeteilten Analysen dürfen wir den Oxybuttersäuregehalt normaler Hundeorgane auf etwa 0,12 bis 0,16 g pro Kilogramm schätzen. Der Hund B dürfte also bei dem Gewichte von 6,4 kg und einem Weichteilgewichte von ca. 6,0 ungefähr 0,7 bis 1,0 Oxybuttersäure im Körper in der Norm enthalten haben. Während er im Verlaufe der Phlorizinvergiftung im Harne des letzten Lebenstages etwa 3,2 g Säure ausgeschieden hatte, kann die Oxybuttersäureanhäufung in seinem Körper sicherlich nicht mehr als 1,6 g Säure betragen haben.

Es lag nun der Gedanke nahe, eine Oxybuttersäureanhäufung in den Organen phlorizindiabetischer Tiere dadurch zu erzwingen, daß man die Ausscheidung der Oxybuttersäure durch die Nieren verhinderte. Leider ist die Durchführung dieses Versuchs an dem Umstande gescheitert, daß meine phlorizindiabetischen Hunde auf der Höhe der Acidose keine schweren operativen Eingriffe vertrugen. Es ist mir nicht gelungen, hungernde phlorizindiabetische Hunde mit Acidose nach Nierenexstirpation oder nach Unterbindung beider Nierenarterien oder aber nach beiderseitiger Ureterunterbindung längere Zeit am Leben zu erhalten. Zwei Hunde, die letzteren Eingriff um 30 Stunden überlebten, hatten selbst auf große Phlorizindosen nur mit geringer Acidose reagiert. Die Organe des einen dieser Tiere ergaben einen annähernd normalen, diejenigen des anderen einen etwa auf das Doppelte gesteigerten Oxybuttersäuregehalt, wobei die Leber nicht mehr von der Säure enthielt als die Muskeln. Bei einem Hunde mit sehr schwerer Acidose, der an einem Tage 5,5 g Oxybuttersäure ausgeschieden und die beiderseitige Unterbindung der Nierenarterien um 3 Stunden überlebt hatte, fand sich in den (12 Stunden post mortem entnommenen) Organen ein durchaus normaler Oxybuttersäuregehalt.

4. Verteilung der Oxybuttersäure in Organen diabetischer Menschen.

Dank dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Vorstandes des pathologisch-anatomischen Instituts in Wien, Herrn Hofrat Prof. Dr. Weichselbaum, war ich in der Lage, die Organe einiger an Coma diabeticum verstorbener Menschen in bezug auf ihren Oxybuttersäuregehalt untersuchen zu können. Die Resultate dieser Analyse sind in beifolgender Tabelle wiedergegeben.

Oxybuttersäuregehalt in den Organen diabetischer Menschen.

	Oxybuttersäuremenge pro 100 g des Organs in g		
	Fall I	Fall II	Fall III
Alter und Geschlecht	34 J., ♀	34 J., ♂	28 J., ♀
Intervall zwischen Tod und Analyse	25 Std.	13 Std.	27 Std.
Muskel	0,139	0,104	0,0412
Leber	0,162	0,163	0,0517
Nieren	0,139	0,129	0,0512
Lungen	0,138	0,129	0,0480
Milz	—	0,126	0,0491

Die Betrachtung dieser Tabelle lehrt uns, daß bei Menschen im Coma diabeticum sich eine außerordentlich viel größere Anhäufung von Oxybuttersäure in den Organen vollzieht, als etwa in denjenigen phlorizindiabetischer Hunde, insofern der Oxybuttersäuregehalt der Organe beim Koma die Norm um das 3 bis 8fache übertrifft. Z. B. kann beim Fall II, dessen Körpergewicht 70 kg betrug (unter Abrechnung des Skeletts) bei einem mittleren Oxybuttersäuregehalt der Organe von 0,13% eine immerhin sehr hochgradige Anhäufung von Oxybuttersäure im Körper (ca. 85 g) angenommen werden.

Die Verteilung der Oxybuttersäure im Körper ist eine recht gleichmäßige. Als dasjenige Organ, das relativ am reichsten an Oxybuttersäure ist, erscheint hier die Leber. Der Unterschied anderen Organen gegenüber ist zwar nicht sehr beträchtlich, liegt aber immerhin merklich außerhalb der Fehlergrenzen. Wir müssen uns hier damit begnügen, diese Tatsache zu registrieren. Die Muskeln wurden bei zweien unserer Fälle relativ oxybuttersäurearm gefunden.

Die Entscheidung der Frage, ob etwa die Leber der hauptsächlichste Produktionsort der Oxybuttersäure sei, oder ob die in anderen Organen entstandene Oxybuttersäure der Leber zugeführt und dort weiter verarbeitet werde, muß weiteren Untersuchungen überlassen bleiben. Immerhin legt die relativ gleichmäßige Verbreitung der Oxybuttersäure in den Organen normaler und diabetischer Menschen und Tiere den Gedanken nahe, daß die Fähigkeit der Oxybuttersäurebildung vielleicht zu den allgemeinen Eigenschaften der Gewebszellen gehören dürfte.

Zusammenfassung.

1. Zur Ermittelung des Oxybuttersäuregehaltes von Organen erscheint sowohl das Shaffersche Verfahren in seiner von Mondschein angegebenen Modifikation (oxydative Acetonabspaltung durch $K_2Cr_2O_7$ in schwefelsaurer Lösung) als auch das Verfahren der Crotonsäureabspaltung durch starke H_2SO_4 und Ermittlung der Crotonsäure durch Bromaddition brauchbar. Doch bedarf das letztere Verfahren einer Modifikation, um eine Trübung der Versuchsresultate durch das Überdestillieren hoher ungesättigter Fettsäuren zu verhüten. Das modifizierte Bromadditionsverfahren und die Shaffer-Mondscheinsche Methode erscheinen einander gleichwertig und geben durchaus übereinstimmende Resultate.

2. Das Blut und die Organe des Menschen und verschiedener Säugetiere enthalten im normalen Zustande konstant eine geringe Menge Oxybuttersäure. Die Verteilung der Oxybuttersäure im Organismus ist eine ziemlich gleichmäßige. Der Gehalt der Organe an dieser Substanz beträgt in der Regel 0,01 bis 0,02%.

3. Die bei hungernden Hunden durch regelmäßige Phlorizindarreichung ausgelöste Acetonkörperausscheidung ist in bezug auf ihre Intensität von individuellen Momenten (insbesondere aber vom Fettgehalt der Tiere) abhängig und erreicht in der Regel am zweiten oder am dritten Phlorizintage ihren Höhepunkt.

4. Die Organe der auf der Höhe der Acidose getöteten Phlorizinhunde enthielten oft 2 bis 3 mal mehr Oxybuttersäure als in der Norm. Doch ist die Menge der im Körper

angehäuften Oxybuttersäure im Vergleiche zu der im Harne eliminierten relativ gering.

5. Dagegen ist die Anhäufung der Oxybuttersäure in den Organen an Coma diabeticum verstorbener Menschen eine weit beträchtlichere; dieselbe kann das 8 fache der Norm betragen, wobei die Leber die relativ größte Anhäufung dieser Substanz aufweist.

Nachschrift.

Erst nach Abschluß der vorliegenden Untersuchungen kam mir die eben erschienene, teilweise dem gleichen Ziele zustrebende Arbeit von Shaffer und Marriot[1]) zu Gesicht.

Da nach Shaffers eigener sorgfältiger Untersuchung seine Methode nur eine Bestimmung von 90% der wirklich anwesenden Oxybuttersäure zuläßt, nach meinen Versuchen aber die Resultate nach der Shafferschen Methode und nach der Bromadditionsmethode kongruieren, scheint die letztere gleichfalls nur eine Genauigkeit von ca. 90% zu gewähren.

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 16, 266 bis 298, Novemb. 1913.

Über die Wirkung des kolloiden Schwefels je nach dem Wege seiner Einführung in den Organismus.

Von

L. Sabbatani.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Kgl. Universität zu Padua.)

(Eingegangen am 23. Dezember 1913.)

Mit 1 Figur im Text.

I.

Vor einigen Jahren studierte ich die pharmakologische Wirkung des kolloiden Schwefels[1]) an Kaninchen und Hunden durch Einführung auf gastrischem und intravenösem Wege. Wegen der immer wichtigeren Stellung, welche die Kolloide in der Biologie einnehmen, habe ich es für angezeigt gehalten, diese Studien wieder aufzunehmen und zu vervollständigen, auch deshalb, weil man schon von der therapeutischen Verwendung des kolloiden Schwefels zu sprechen beginnt, deren Grundlage eine genaue Kenntnis seines pharmakologischen Verhaltens sein muß.

Früher hat man stets die Wirkung des Schwefels bei Darreichung per os, durch Klistiere oder bei äußerlicher Anwendung studiert, weil seine Unlöslichkeit im Wasser[2]) einen anderen Weg nicht zuließ und weil jene Flüssigkeiten, die ein gutes Lösungsmittel des Schwefels abgeben (wie Benzin, Schwefelkohlenstoff), für medizinische Anwendung ungeeignet sind. Andere, die dazu geeignet wären, wie Fette, Vaselin, Glycerin

---

[1]) L. Sabbatani, Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thérapie 18, 373 bis 391, 1908.

[2]) Wir werden nachstehend sehen, daß eine wenn auch ganz geringe Löslichkeit in Wasser zugegeben werden muß.

vermögen ihn weder genug zu lösen noch aufzusaugen[1]). Immerhin müssen wir zugeben, daß das Studium der Lösungsmittel des Schwefels hinsichtlich seiner therapeutischen Anwendung fortgesetzt zu werden verdient, hauptsächlich was die Salben betrifft, in denen der Schwefel sich in verschiedenem physikalischen Zustand[2]) findet: als Suspension, als Lösung, vielleicht auch als feste Lösung und als feste kolloide Lösung[3]).

Wegen der Schwierigkeit, geeignete Lösungen herzustellen, ist nicht nur die Anwendung des Schwefels in der Therapie, sondern auch das pharmakologische Versuchsgebiet sehr beschränkt geblieben.

Heffter[4]) hat z. B. versucht, die allgemeine Wirkung nach Injektion von Schwefelpräcipitat in die Blutbahn zu studieren, aber die sich besonders in der Lunge bildenden Embolien und die folgenden Pneumonien erlaubten keine genaue Untersuchung. Immerhin konnte er feststellen, daß auf diesem Wege das Präparat die Entwicklung von Schwefelwasserstoff veranlaßt, geradeso wie per os oder äußerlich angewandt.

Es ist natürlich, daß man sogleich nach Beginn des pharmakologischen Studiums der Kolloide auch an den Schwefel und an die Möglichkeit, ihn in diesem physikalischen Zustand zu verwenden, gedacht hat. Ich kann hier nicht die lange Reihe der chemischen Untersuchungen über den kolloiden Schwefel aufzählen, die mit den Arbeiten von Selmi und Sobrero[5]) im Jahre 1850 beginnt. Hierüber kann man die Arbeit von Debus[6]) zu Rate ziehen, worin die Literatur bis zum Jahre 1888 verzeichnet ist, ebenso auch eine Arbeit von Nevinny[7]). Ich will nur erwähnen, daß wir viele Methoden zur Bereitung des kolloiden Schwefels besitzen; einige geben reine Lösungen und sind von hohem Dispersitätsgrad, von amikroskopisch kolloidem Schwefel in beinahe ganz reinen, mehr oder weniger stabilen Lösungen. Nach anderen erhält man sehr feine Suspensionen in mikroskopisch gut sichtbaren Körnchen; manchmal ist der Schwefel in reinem Wasser im Kolloidzustand, oder in Gegenwart

[1]) H. Paschkis, Monatsschr. f. prakt. Dermatol. 17, 286 bis 287, 1893.

[2]) L. Sabbatani, Commentario alla Farmacopea Italiana, Unione Tipografica Editrice. 3, I, 378 bis 891. Torino 1897.

[3]) L. Sabbatani, Comunicazione all' Acc. Med. di Padova, Seduta delli 11 aprile 1913; Kolloid-Zeitschr. 13, 249 bis 252, 1913.

[4]) A. Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 51, 175 bis 181, 1904.

[5]) Selmi und Sobrero, Ann. de Chim. et de Physique 28, 210 bis 215, 1850.

[6]) H. Debus, Annal. d. Chem. 244, 76 bis 189, 1888.

[7]) J. Nevinny, Berl. klin. Wochenschr. 45, 1883 bis 1886, 1936 bis 1940, 1908.

von Gelatine[1]), von Glutinen[2]), von Glycerin[3]), endlich finden wir im Handel verschiedene sogenannte kolloide Präparate, die es tatsächlich nicht sind, und die manchmal auch große Mengen von Proteinsubstanzen enthalten[4]). Am Schlusse dieser Abhandlung verzeichne ich nur die neueren einschlägigen Arbeiten, die für unsere Untersuchung direkt wichtig sind.

Man hat in der Medizin schon über kolloiden Schwefel gesprochen, als noch keine sichere Methode, ihn herzustellen, bekannt war.

Bory[5]) verwandte allerfeinsten, in Glycerin suspendierten, mit einem Drittel künstlichen Serums verdünnten Schwefel zu Injektionen bei Meerschweinchen; er fand ihn unschädlich und wandte ihn bei Brustkranken an. Bei diesen Versuchen erwähnt er auch gelösten Schwefel, doch handelte es sich wohl um eine einfache Suspension, auch wissen wir nicht, wieviel Schwefel er injizierte.

Delehaye und Piot[6]) bemerkten, daß subcutane Einspritzungen bei den Versuchstieren lokale Reizerscheinungen verursachten, während Injektionen von in Öl gelöstem Schwefel keinerlei Störung hervorriefen; sie machen aber keine Angaben über die Konzentration der Lösung, die in Anbetracht der geringen Löslichkeit des Schwefels in Öl nur unbedeutend sein konnte.

Fleig[7]) berichtet, daß man Schwefelpräcipitat subcutan ohne üble Folgen anwenden und auch intravenös injizieren könne, wenn das Präparat kurz vor dem Gebrauch bereitet wird und der Schwefel sehr fein ist. Er meint ferner, daß der kolloide Schwefel von allen der tauglichste zu subcutanen oder venösen Injektionen sei. In einem späteren Bericht[8]) behandelt er die Herstellung des kolloiden Schwefels. Zu diesem Zwecke benutzte er die Reaktion zwischen einem Polysulfid und Salzsäure, zwischen Hyposulfid und einer Säure, zwischen Schwefelwasserstoff und schwefliger Säure, wobei diese Reaktionen in Gegenwart von Glycerin vor sich gehen mußten, d. h. er benutzte das Verfahren von Lobry De Bruyn[9]). Wenn man aber die Eigenschaften des so erhaltenen Präparats nach seiner eigenen Beschreibung näher betrachtet, muß man die kolloide Natur dieses Schwefels sehr in Zweifel ziehen. Er beschreibt ihn als: „un

---

[1]) Lobry de Bruyn, Rec. Trav. chim. Pays-Bas. **19**, 236, 1900.

[2]) Ch. Kelber und A. Schwarz, Therap. Monatsh. **26**, 447, 1912.

[3]) L. Bory, Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 512 bis 514, 1907; **64**, 109 bis 111, 1908.

[4]) G. Arends, J. Springer, Berlin 1909. S. 568.

[5]) l. c.

[6]) Delehaye und Piot, Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 601, 1907.

[7]) C. Fleig, Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 625 bis 627, 1907.

[8]) C. Fleig, Compt. rend. Soc. Biol. **64**, 221 bis 223, 1908.

[9]) l. c.

soufre colloïdal en suspension dans du sérum artificiel", als „des émulsions plus ou moin riches en soufre colloïdal", er ist jedoch eine Emulsion und keine eigentliche kolloide Lösung. Dieser Schwefel „au bout d'un quart d'heure laisse peu à peu déposer du soufre" und ist daher sehr wenig stabil, obgleich er sich „au sein de solutions de gélatine de concentration variable" befindet. Im besten Falle bekam er eine Mischung von kolloidem Schwefel und Schwefelpräcipitat, in der das letztere bedeutend vorherrschte. Deswegen konnte er nicht mit Sicherheit die pharmakologische Wirkung des kolloiden Schwefels bestimmen, außerdem war der Versuch auch durch Anwesenheit einer großen Menge Gelatine beeinträchtigt.

Das ersieht man klar aus seiner Mitteilung, wo es lautet: „Suivant leur teneur en soufre et en gélatine, ces solutions sont de consistance semi-liquide ou parfaitement liquide, de couleur blanc bleuté avec un degré plus ou moins marqué d'opalescence."

Fleig fand diese Schwefelpräparate bei intravenösen Injektionen unschädlich, und das ist leicht zu verstehen, weil in ihnen der Schwefel fein genug war, um keine Embolien zu verursachen, aber nicht fein genug, um die charakteristische toxische Wirkung des in einer echten kolloiden Lösung in hohem Dispersitätsgrad befindlichen Schwefels zu erzeugen.

Maillard und Danlos[1]) teilen, nur um sich die Priorität ihrer Untersuchungen zu sichern, im Jahre 1907 ganz kurz die Tatsache mit, daß sie einen kolloiden Schwefel studieren.

Bory[2]) veröffentlichte im selben Jahre eine zweite Arbeit, worin er berichtet, zwei Schwefelpräparate in Glycerin und Wasser erhalten zu haben: eins beschreibt er als eine 0,03 g per Mille Schwefel enthaltende echte Lösung, das andere als eine Mischung einer echten und einer kolloiden Lösung mit einem Gehalt von 0,197 g Schwefel per Mille. Diese letztere erprobte er an Kaninchen, denen er 3 ccm in die Auricularvene einspritzte, was eine unschädliche Wirkung im Gefolge hatte. Die injizierte Schwefelmenge war so gering (0,000591 g), daß sie sicher keinen Schaden anrichten konnte, auch wenn der Schwefel sich in echter Lösung befunden hätte.

Feigl und Rollett[3]) bemerkten, daß das Sulfoid (auch Sulfidal oder kolloider Schwefel, Schwefel von Heyden genannt), sowie viele andere Kolloide die Magensaftabsonderung vermehren. Dieses Präparat enthält 80% Schwefel und 20% Eiweißsubstanz; es ist von Max Joseph[4]) wegen seiner, im Vergleich zu den gewöhnlich gebrauchten, intensiveren Wirkung bei verschiedenen Hautkrankheiten empfohlen worden. In

---

[1]) L. C. Maillard und H. Danlos, Compt. rend. Soc. Biol. **63**, 732, 1907.

[2]) l. c.

[3]) J. Feigl und A. Rollett, diese Zeitschr. **8**, 145 bis 179, 1908.

[4]) Max Joseph, Dermatolog. Centralbl. **10**, 1907.

pharmakologischer Hinsicht wurde es von Nevinny[1]), später von Konschegg[2]) und zuletzt auch von Izar[3]) studiert.

Nevinny stellt einen sehr genauen Vergleich zwischen dem Schwefelpräcipitat und dem Sulfidal an. Er findet, daß letzteres, auf gastrischem Wege den Hunden eingegeben, in größerer Menge aufgesaugt wird und daher die Sulfate im Harn vermehrt. Er bemerkt beim Präcipitat eine Zunahme, beim Sulfidal hingegen eine Abnahme des neutralen Schwefels im Urin. Bezüglich der abführenden Wirkung findet er beim Sulfidal weichere und langsamer entleerte Faeces als beim Schwefelpräcipitat; immerhin scheint ihm die Wirkung intensiver zu sein, weil die gewöhnlichen Dosen beim gereinigten Schwefel 1,0 bis 1,5 g, beim Präcipitat 0,3 bis 0,5 g, und jene beim Sulfidal 0,1 g betragen. Einem Hunde subcutan injiziert, oxydiert seiner Meinung nach das Sulfidal nur langsam.

Bei vergleichenden Versuchen mit Präcipitat und Sulfidal mit Eiweiß findet er, daß dieses weniger Schwefelwasserstoff entwickelt und glaubt, dies hinge vom Schutz des im Sulfidal enthaltenen Kolloids ab.

Die genannten Versuche Nevinnys zeigen ein vom Schwefelpräcipitat im wesentlichen wenig verschiedenes Verhalten des Sulfidals; es handelt sich hauptsächlich um die ungleiche Intensität der pharmakologischen Wirkung oder der Absorption, die folgerichtig mit der größeren Feinheit dieses Präparats in Beziehung gebracht werden können.

Sicherlich ist Sulfidal ein vorzügliches Präparat, das das Präcipitat in der Praxis mit Vorteil ersetzen dürfte. Auch könnte man mit ihm neue und besondere therapeutische Verwendungsweisen versuchen, da es ohne Zweifel viel feiner als letzteres ist, doch dürfen wir es deswegen nicht ohne weiteres zu den Kolloiden rechnen.

Um zu zeigen, daß es sich wirklich um ein Kolloid handelt, bemerkt Nevinny: „Für den kolloiden Zustand der Lösung spricht die Tatsache, daß bei der Dialyse keine Spur des Schwefels durch die Membran geht", aber das beweist nichts, denn auch das in Wasser suspendierte und mit Ochsengalle gefärbte Schwefelpräcipitat geht nicht durch die dialysierende Membran. Hier ist es angebracht, daran zu erinnern, daß Izar[4]) um die kolloide Natur des Sulfidals zu beweisen, sich gerade auf die Meinung Nevinnys stützt, die, wie man sieht, nur schlecht begründet ist.

Es leuchtet ein, daß dieses Präparat nicht dialysieren kann, weil es unterm Mikroskop bei mäßiger Vergrößerung aus gut sichtbaren und meßbaren Körnchen besteht. Zwischen Kolloid und Kolloid besteht eine ungeheure Verschiedenheit der Körnchengröße, die sich zwischen 1 $\mu\mu$ und 0,1 μ[5]) bewegt und in kaum merklichen Größenunterschieden die ge-

[1]) l. c.

[2]) A. Konschegg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, 502 bis 517, 1910.

[3]) G. Izar, Patologica 4, 225 bis 226, 1912; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. 15, 238 bis 244, 1912.

[4]) G. Izar, Patologica 5, 162, 1913.

[5]) W. Ostwald, Kolloidchem. Beihefte 4, 8, 1912.

wöhnlichen Suspensionen erreicht. Wegen seiner physikalischen Eigenschaften gleicht das Sulfidal aber mehr einer gewöhnlichen Suspension als einem Kolloid. In der Tat schreiben Feigl und Rollett[1]): „Sulfidal bildet, mit Wasser übergossen und geschüttelt, eine milchig-trübe, ziemlich rasch sedimentierende Flüssigkeit." Es ist unbegreiflich, wie man von einer kolloiden Flüssigkeit sprechen kann, wenn man eine „ziemlich rasch sedimentierende Flüssigkeit" vor sich hat.

Trotzdem ist dieses Präparat als kolloider Schwefel im Handel und ist als solcher in pharmakologischer und therapeutischer Hinsicht geprüft worden.

Im Jahre 1908 veröffentlichte Raffo[2]) seine Methode zur Herstellung kolloiden Schwefels, die bis heute die einzige ist, mit der man einen höchst stabilen amikroskopischen kolloiden Schwefel erhält, der einen sehr hohen Dispersitätsgrad besitzt, ganz klare und durchsichtige vollkommen reine Lösungen gibt, die nur ganz geringe Spuren von Sulfaten als Solbildner aufweisen.

Wegen seiner hohen Dispersität gleicht dieser kolloide Schwefel auch nicht im geringsten anderen sogenannten kolloiden Schwefeln, die heute im Handel vorkommen und mit Wasser nichts als eine Suspension geben. Es ist das am besten und mehr als jedes andere vom chemisch-physikalischen Standpunkt aus studierte Kolloidschwefelpräparat. [Bezüglich einiger chemischen Reaktionen siehe man[3]), bezüglich der Gleichgewichtsbedingungen im System Schwefel-Salzlösung[4]), bezüglich seines Verhaltens gegenüber Elektrolyten[5]).] Mit diesem Präparat von Raffo untersuchte ich im Jahre 1908 zum erstenmal kolloiden Schwefel in pharmakologischer Hinsicht[6]).

Meine ersten Untersuchungen erstreckten sich auf Hunde und Kaninchen, denen das letztgenannte Präparat auf gastrischem oder intravenösem Wege einverleibt wurde, auf den Blutkreislauf, auf isolierte Froschmuskeln, auf verschiedene Organe in vitro.

---

[1]) l. c.

[2]) M. Raffo, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide **2**, 358 bis 360, 1908.

[3]) M. Raffo und A. Pieroni, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide **7**, 358 bis 360, 1910. — M. Raffo und G. Rossi, ebenda **10**, 278 bis 280, 1912.

[4]) T. Svedberg, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie der Kolloide **4**, 49 bis 54, 1909. — M. Raffo und G. Rossi, Kolloid-Zeitsch. **13**, 289 bis 297, 1913.

[5]) Sven Odén, Arkiv för Kemi etc. utg. af K. Svenska Vetensk. Akad. i Stockholm **3**, Nr. 31. — M. Raffo und J. Mancini, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide **9**, 58 bis 61, 1911.

[6]) L. Sabbatani, Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thérapie **18**, 373 bis 391, 1908.

Ich konnte zeigen, daß der kolloide Schwefel auch in dieser physikalischen Form trotz seines sehr hohen Dispersitätsgrades an und für sich unwirksam ist, wie das auch bei den gewöhnlichen Schwefelpräparaten der Fall ist.

Die Versuche haben dargetan, daß er sowohl in vitro bei Berührung mit tierischen Organen und Geweben wie auch beim lebenden Tiere nach Verabreichung per os oder in die Blutbahn immer nnd rasch Schwefelwasserstoff entwickelt.

Es wurde bewiesen, daß die lokale und allgemeine und gleichfalls die toxische Wirkung des kolloiden Schwefels vom Schwefelwasserstoff herrührt, den er erzeugt.

Ich habe nachgewiesen, daß auf intravenösem Wege injiziert 0,0066 g schon hinreichen, um ein 1 kg schweres Kaninchen sofort zu töten, während auf gastrischem Wege ungefähr 0,2500 g erst nach einigen Stunden den Tod des Tieres herbeiführen.

Von Hunden werden kleine Dosen, die in den Magen gelangen, ohne Schädigung vertragen, bei sehr hohen Dosen wird Erbrechen hervorgerufen, wodurch das Tier sich von allen weiteren toxischen Erscheinungen befreit.

Ich habe gefunden, daß, wie beim Schwefelwasserstoff, die dem Kaninchen intravenös beigebrachte tödliche Dosis von der Geschwindigkeit der Injektion abhängt, denn je langsamer sie erfolgt, um so größer ist die Menge des sich entwickelnden Schwefelwasserstoffs, den das Tier beim Ausatmen abzugeben oder zu Schwefelsäure zu oxydieren imstande ist.

Ich konnte bei Injektion auf gastrischem Wege beim Kaninchen nachweisen, daß: „mentre l'acido solfidrico si produce con una certa lentezza nell' intestino, si ossida abbastanza rapidamente quando è entrato in circolo fino ad acido solforico; così l' azione sua generale compare molto tardi, solo per dosi alte, si svolge lentamente ed è accompagnata da fatti di intossicazione acida".

Schließlich habe ich den Beweis dafür erbringen können, daß die Umwandlung in Schwefelwasserstoff und daher auch die Giftwirkung beim krystallinischen Schwefel langsam vor sich geht, schneller beim amorphen und sehr schnell beim kolloiden Schwefel; die Wirkung steht immer im direkten Verhältnis zur Feinheit des Präparates und deswegen zur größeren Oberfläche,

wodurch natürlicherweise bei den verschiedenen kolloiden Schwefeln der Giftwert mit dem Dispersitätsgrad steigt.

Konschegg[1]) hat i. J. 1910 die von Nevinny[2]) begonnenen Studien fortgesetzt und sich mit der vergleichenden Untersuchung des Schwefelpräcipitates und des Sulfidals beschäftigt. Er fand, daß dieses von Hunden gut vertragen wurde und auch in großen Dosen (6 g pro die bei Hunden von 6,730 bis 5,270 kg) nur Durchfall verursachte.

Die Gesamtmenge der Schwefelsäure und des Schwefelesters im Urin messend, bemerkte er bei Anwendung genannter Präparate, daß beide eine Zunahme der mineralischen Sulfate und der Ester bewirken. Besonders auffallend ist diese Zunahme beim Sulfidal, namentlich in bezug auf die Ester. Er hebt das mit Recht hervor, denn „wie vorauszusehen, traten bei den Tieren nach Eingabe der betreffenden Präparate bald diarrhöische Stühle auf, welcher Umstand die gleichzeitige Vermehrung der Ätherschwefelsäuren um so bemerkenswerter erscheinen läßt".

Auch bei diesen Versuchen Konscheggs verhält sich das Sulfidal wenig verschieden vom Schwefelpräcipitat. Nur wegen der größeren Feinheit des Präparates wird mehr absorbiert, und eine größere Menge Schwefel geht als Schwefelsäure in den Harn über.

Maillard, der i. J. 1907 über seine Untersuchungen[3]) kurz berichtet, hat erst 1911 drei im Titel nur wenig verschieden lautende Arbeiten über kolloiden Schwefel veröffentlicht[4]). Er geht bei der Bereitung von der Wachenroderschen Reaktion aus und meint, daß man auf diese Weise zwei kolloide Formen erhält; eine wäre die von Debus als Schwefel δ beschriebene; die andere sei neu, und mit ihr erhalte man klare Lösungen von gelber Farbe.

Es erübrigt sich, hier auf diese Formen einzugehen, denn in einer wenige Monate früher erschienenen Arbeit von Sven Odén[5]) ist eine gute Beschreibung des mit der Wachenroderschen Reaktion erzeugten kolloiden Schwefels und der vielfachen — nicht bloß zwei — damit erhältlichen Varietäten enthalten. Es muß jedoch erwähnt werden, daß Maillards Tierexperimente „avec la solution colloïdale latteuse opaque; celle qui se rapproche le plus de la description du soufre δ de Debus" angestellt wurden, er gebrauchte also einen Schwefel von sehr schwachem Dispersitätsgrad.

Zu den Tierversuchen verwandte er diesen Schwefel nicht in reinem Wasser gelöst, sondern in einem ziemlich komplizierten Präparat, das für

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) l. c.

[4]) L. C. Maillard, Compt. rend. Soc. Biol. 70, 940 bis 943, 1911; Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 152, 1583 bis 1586, 1911; Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. 13, 809 bis 824, 1911.

[5]) Sven Odén, Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide 8, 186 bis 193, 1911.

pharmazeutische Spezialitäten vielleicht gut zusammengesetzt ist, aber zur wissenschaftlichen Forschung wenig geeignet war:

Rohrzucker	125,0 g
Kolloide Lösung von Schwefel δ zu 73,736 pro Mille	67,8 ccm
Alkohol zu 95°	150,0 ccm
Handelsübliche Liköressenz (eine Art Chartreuse)	10,0 ccm
Wasser bis	500,0 ccm

Mit dieser Mischung, die 1% Schwefel enthält, hat Maillard an drei wenig über 2 kg schweren Kaninchen Versuche angestellt, indem er 3 Tage hintereinander per os je 0,05 g dem ersten, 0,10 g dem zweiten und 0,15 g dem dritten verabreichte. Gleichzeitig bestimmte er den Schwefel im Harn und im Kot, die Menge der Schwefelsäure und der Ätherschwefelsäuren im Harn.

Der Autor sagt nichts über toxische Erscheinungen, die tatsächlich bei der Art seines Versuches nicht auftreten konnten, auch wenn der verwendete Schwefel einen dem meinen gleichen allerhöchsten Dispersitätsgrad besessen hätte und man so in der Lage gewesen wäre, einen direkten Vergleich anzustellen. Seine stärkste Dosis betrug nur ungefähr $^1/_3$ von der, die ich als minimale tödliche Dosis gefunden hatte.

Die Resultate der Analysen Maillards bestätigen von mir beobachtete Tatsachen[1]), daß nämlich der auf gastrischem Wege eingegebene Schwefel großenteils als Schwefelsäure in den Harn übergeht. Sie bestätigen ferner die schon von Konschegg[2]) bewiesene Zunahme der Schwefelester und weiter eine Beobachtung Regensburgers[3]) vom Jahre 1876, daß per os gereichter Schwefel nicht als Sulfat, sondern teilweise in anderer organischer Form (neutraler Schwefel) in den Harn übergeht. Er erwähnt, daß, sobald man mit den Schwefelgaben aussetzt, die Schwefelester im Harn sich sehr vermindern, was nichts für den Schwefel besagen will, weil dieselbe Erscheinung nach Anwendung von abführenden oder antiseptischen Stoffen ziemlich häufig auftritt und kürzlich von Simon[4]) beim Jodguajacol beobachtet wurde.

In Maillards Arbeit, die von der meinigen[5]) ebensowenig Notiz nimmt wie von der Nevinnys[6]) und Konscheggs[7]) oder von den zahlreichen in der Zeitschr. f. Chem. u. Ind. d. Kolloide über den kolloiden Schwefel veröffentlichten, findet sich als eigene Beobachtung die

---

[1]) L. Sabatani, Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thérapie 18, 373 bis 391, 1908.

[2]) l. c.

[3]) M. Regensburger, Zeitschr. f. Biol. 12, 479 bis 496, 1876.

[4]) J. Simon, Arch. di Farm. sperim. e Sc. aff. 1913.

[5]) l. c.

[6]) l. c.

[7]) l. c.

Angabe, daß der Schwefel δ von Debus in größerer Menge im Vergleich mit Schwefelblumen, Präcipitat und Sulfidal absorbiert wird, während meine Untersuchungen mit Raffos kolloidem Schwefel eine so schnelle Aufsaugung erwiesen haben, daß sogar schwere toxische Erscheinungen und der Tod der Tiere folgen können.

Er studiert ausschließlich die Ausscheidung und berücksichtigt nur die letzten chemischen Formen, die per os gereichter kolloider Schwefel ergibt, ohne sich im mindesten um die physikalischen Veränderungen, die im Verdauungstrakt erfolgen können, noch um die Art der Absorbierung zu kümmern, denen er unterworfen sein kann.

Betreffs der physikalischen Veränderungen beschränkt er sich darauf, zu sagen, daß „il était permis d'espérer que, bien qu'exposé à floculer dans ces conditions, il pourrait conserver sa faculté de redissolution et son état d'extrême division granulaire pendant un temps suffisant pour son entrée en réaction ou son absorption".

Bezüglich der chemischen Veränderungen, die der Schwefel noch vor der Absorption im Darm erleiden könnte, weist er kaum auf die mögliche Verwandlung in Schwefelwasserstoff hin, als ob das nicht eine schon längst erwiesene Tatsache bei allen Schwefelarten und auch beim kolloiden wäre, und schließt dann sogleich: „Je ne trancherai pas ici la question; j'indiquerai seulement que chez l'homme l'ingestion du soufre colloïdal est suivie d'une odeur d'hydrogène sulfuré dans les fèces; je n'ai observé ce fait chez aucun de mes trois lapins".

Die Nase ist immer, auch für einen gewiegten Untersucher, ein unsicheres Reagens, und der Kot normaler, ganz gesunder Kaninchen, denen nie irgendwelcher Schwefel gegeben wurde, gibt mit Bleiessig unfehlbar eine Reaktion von Schwefelwasserstoff.

Aus der ganzen Arbeit Maillards geht hervor, daß er dem Glauben zuneigt, der in gelöster Form befindliche kolloide Schwefel müsse als solcher absorbiert werden, und am meisten kommt diese Meinung zum Vorschein, wo er sich Carnots[1]) Ansicht anschließt. Dort wird angenommen, der kolloide Schwefel wäre zu einer chemischen Probe geeignet, bei der der Oxydationskoeffizient des Schwefels den Index der Lebertätigkeit abgeben könnte.

Niemand zieht in Zweifel, daß Kolloide vom Darm absorbiert werden, aber Maillard hat unterlassen, sich der Tatsache zu versichern, ob sein kolloidaler Schwefel, sobald er in den Verdauungstrakt eingeführt ist, in diesem physikalischen Zustande bleibt; er hat sich damit begnügt, es zu hoffen.

Es ist eine durch nichts bestätigte Hypothese — denn vieles spricht dagegen —, daß der kolloide Schwefel direkt resorbiert wird und als solcher in den Kreislauf übergeht. Für ihn gilt durchaus nicht, was die Pharmakologie über die gewöhnlichen Schwefelpräparate lehrt, und ist, wie wir sehen werden, für die von mir studierte kolloide Form mit hohem Dispersitätsgrad nicht zulässig und notgedrungen widersinnig bei

[1]) P. Carnot, Compt. rend. Soc. Biol. **70**, 943, 1911.

der von Maillard studierten weniger dispersen Form. Wenn wir trotzdem voraussetzen wollten, daß eine minimale Menge wirklich kolloiden Schwefels direkt resorbiert und als solcher in den Kreislauf gelangen könnte, würde er sich doch sofort in Schwefelwasserstoff verwandeln, wie das durch meine Untersuchungen mit intravenösen Injektionen erwiesen ist.

Eine Tatsache steht in der Pharmakologie des Schwefels fest, nämlich daß er in allen allotropen Formen, in jedem physikalischen Zustand, bei allen Untersuchungen, denen er bis heute unterworfen wurde: in vitro, äußerlich an einzelnen Organen, auf oralem oder subcutanem Wege, intramuskulär, intraperitoneal oder intravenös einverleibt, in der ersten Zeit Schwefelwasserstoff entwickelt. Wir wissen nicht genau, durch welche chemischen Reaktionen das geschieht, aber die direkte Umwandlung des Schwefels in Schwefelwasserstoff ist eine sichere und regelmäßige. Hierüber findet sich eine Bibliographie in Nevinnys Arbeit[1]). Die Oxydation erfolgt später, und sie hat nicht auf den Schwefel gewirkt, wenn wir unter den Ausscheidungsprodukten Schwefelsäure finden. Wenn Maillard diesen Assimilierungsprozeß berücksichtigen wollte, würde er es sicher angebracht finden, einige seiner Hypothesen über die Oxydation des kolloiden Schwefels, die Bildung von Schwefelestern und über andere organische Schwefelprodukte zu modifizieren.

Izar[2]) hat die Wirkung des kolloiden Schwefels auf das Sarkom von Ratten studiert und sehr gute Resultate erzielt. Er hat den Schwefel von Heyden und Kahlbaum intravenös angewandt und bei Injektion eines halben Kubikzentimeters 1%iger Lösung beobachtet: „Dieselbe Einspritzung wird von frischen Ratten anstandslos vertragen" und „Kaninchen kann man ohne wahrnehmbaren Schaden bis 20 ccm einer solchen Lösung intravenös einspritzen". Auf Grund seiner Tierversuche war er so sehr von der Ungiftigkeit des kolloiden Schwefels überzeugt, daß er ihn bei einer an rezidivierendem Uteruscarcinom leidenden Frau mehrmals zu intravenösen Injektionen gebraucht hat. Er versichert, daß er „ha preferito il solfo colloidale perchè in tale stato fisico l' azione degli elementi e dei loro composti risulta più duratura e meno tossica"; diese Behauptung ist aber nicht durch Tatsachen erhärtet, denn wenn man nicht mit Heydens sondern mit Raffos kolloidem Schwefel arbeitet, sterben die Tiere stets und sogar nach minimalen intravenös eingespritzten Gaben.

Schon vorher wurde erwähnt, daß der von Izar verwendete, mit Wasser angeriebene Schwefel eher einer Suspension von präcipitiertem Schwefel als einer kolloiden Lösung ähnelt. In ihr sind die Schwefelkörnchen sehr fein, aber unterm Mikroskop gut sichtbar. Sie sind so fein, daß sie bei intravenösen Einspritzungen anstandslos vertragen werden und keine Embolien verursachen, doch sind sie, verglichen mit

[1]) l. c.

[2]) G. Izar, Patologica **4**, 225 bis 226, 1912; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. **15**, 238 bis 244, 1912.

dem Dispersitätsgrad von Raffos kolloidem Schwefel, ungeheuer groß, viel größer als Kolloide gewöhnlich sein dürfen.

Da der Schwefel nur wirksam wird, insoweit er sich in Schwefelwasserstoff umwandelt und diese Umwandlung ceteris paribus eine Funktion der Oberfläche ist, die der Einwirkung des organischen Reagens ausgesetzt wird, so wird bei um so höherem Dispersitätsgrade die Bildung von Schwefelwasserstoff um so schneller erfolgen und das Auftreten toxischer Phänomene um so langsamer und schwächer vor sich gehen, je geringer der Dispersitätsgrad ist. Ist letzteres der Fall, so erfolgt die Umwandlung in Schwefelwasserstoff so langsam, daß er bei seiner Bildung zu Schwefelsäure oxydiert wird oder in organische Formen übergeht (neutraler Schwefel). Dann ist es schwierig, den Schwefelwasserstoff auf chemischem Wege nachzuweisen, und alle seine gewöhnlichen charakteristischen toxischen Eigenschaften fehlen gänzlich.

Diese zwischen Feinheit des Schwefelpräparates, Schnelligkeit der chemischen Reaktion und Giftigkeit bestehende Beziehung ist chemisch gut bewiesen, denn „es entwickeln die kolloiden Schwefellösungen mit nascierendem Wasserstoff eine bedeutende Menge Schwefelwasserstoff, während bei Anwendung anderer Schwefelarten nur Spuren hiervon entstehen" (Raffo). Biologisch zeugt dafür die Tatsache, daß das Schwefelpräcipitat bekanntermaßen ungefähr 10mal wirksamer ist als Schwefelblumen, ferner daß Sulfidal (Nevinny, Konschegg) in viel größerer Menge assimiliert wird, daß beim kolloiden Schwefel von Debus dies noch mehr der Fall ist (Maillard) und daß Raffos kolloider Schwefel giftig ist (Sabbatani), während die anderen Präparate es gar nicht oder in viel geringerem Grade sind.

Vor kurzem habe ich nachgewiesen[1]), daß der von Izar zu intravenösen Einspritzungen verwendete Schwefel sich unschädlich zeigte nicht weil er, nach Izars Meinung, sich in kolloidem Zustande befand, sondern weil er gar nicht kolloid war oder wenigstens keinen genügend hohen Dispersitätsgrad besaß. Trotzdem veröffentlichte vor kurzem A. Fagiuoli[2]) der im selben Institut wie Izar arbeitet, eine Mitteilung über die Wirkung des kolloiden Schwefels auf die Autolyse und verfällt in denselben Irrtum wie Izar und andere, d. h. er verwendet den Schwefel Heydens und Kahlbaums im Glauben, kolloiden Schwefel vor sich zu haben. Er weiß es nicht und bemerkt es auch nicht, daß beim Mischen von Schwefel mit Leberbrei sich Schwefelwasserstoff entwickelt. Seine Folgerungen sind daher doppelt irrig.

Hieraus möchte ich folgern, daß beim Studium der physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften der Kolloide unbedingt auf ihren Dispersitätsgrad Rücksicht genommen werden muß. Gerade hier beim Schwefel ist dies von

---

[1]) L. Sabbatani, Patologica **5**, 7 bis 9, 1913.

[2]) A. Fagiuoli, diese Zeitschr. **56**, 291 bis 294, 1913.

höchster Wichtigkeit, denn wenn auch seine pharmakologische Wirkung von Grund aus konstant ist, ändert sich ihre Intensität fortwährend mit zunehmender Dispersität.

Vom festen krystallinischen zum amorphen Schwefel, vom feinsten suspendierten zum großkörnigen, vom feinstkörnigen bis zum amikroskopischen kolloiden, wächst die Schnelligkeit der chemischen Reaktionen beständig, je nachdem er sich vom inaktiven zum aktiven Produkte durch Einwirkung der Oberfläche verwandelt, und in Übereinstimmung damit ändern sich die biologischen Wirkungen. Davon rührt die Unstimmigkeit über das Verhalten und die allgemeine Wirkung des kolloiden Schwefels her, der wir in der Literatur begegnen.

II.

Veränderungen des physikalischen Zustandes, den der kolloide Schwefel im Organismus erleidet.

Auch wenn der kolloide Schwefel auf eine Weise hergestellt ist, die sehr beständige, amikroskopische und einen hohen Dispersitätsgrad besitzende Lösungen gibt, nimmt er doch wegen der anwesenden Elektrolyte weniger disperse Formen an, was sehr gut von Sven Odén[1]) erläutert worden ist. Wegen der anwesenden Salze, Alkalien oder anderer Kolloide geht er leicht vom Zustand des Hydrosols in den des Hydrogels und darauf in amorphe Form über. Wenn er schließlich längere Zeit im hydrogelen Zustand bleibt, nimmt er nach und nach amorphe, nicht mehr lösliche Präcipitatform an und endlich ganz langsam krystallinische Form.

Daher beginnt er, auf welchem Wege er auch dem Organismus einverleibt wird, sogleich die vorgenannte Reihe physikalischer Umwandlungen zu erleiden, die ersten sehr rasch, die letzten hingegen sehr langsam; und die Schnelligkeit, mit der sie sich abspielen, ist je nach der Stelle und den organischen Bedingungen, die er bei der Einführung findet, sehr verschieden. Folglich kann die Wirkung desselben Schwefelpräparates je nach der Verwendungsart sehr ungleich sein. Sie variiert auch nach dem Tempo seiner Anwendung, weil,

[1]) Sven Odén, Zeitschr. f. Chem. u. Industrie d. Kolloide **8**, 186 bis 193, 1911; **9**, 100 bis 106, 1911.

wie wir vorher gesehen haben, die Schnelligkeit der ihn in aktive und giftige Produkte umwandelnden chemischen Reaktionen eine Funktion der Oberfläche und des Dispersitätsgrades ist.

Wenn wir uns daher in vorliegender Arbeit mit der Wirkung von Raffos kolloidem Schwefel beschäftigen wollen, ist es unerläßlich, mit der Untersuchung der Veränderungen seines physikalischen Zustandes zu beginnen, die er in vitro bei Kontakt mit tierischen Geweben erleidet, oder wenn er per os, durch subcutane, intraperitoneale oder intravenöse Injektion eingeführt wird.

Tierische Gewebe in vitro. (Versuch 14.) In Reagensgläschen gleicher Größe werden Stücke verschiedener Organe und Gewebe eines vor kurzem getöteten Kalbes gegeben. Jedes Stück wiegt 4 g, dem 10 ccm einer 0,46%igen kolloiden Schwefellösung zugesetzt werden, worauf man die Gläschen bei 25° in den Thermostaten stellt. Während nach 20 Stunden die reine, in einem Kontrollgläschen befindliche Lösung ganz klar geblieben ist und keine Spur eines Niederschlages zeigt, sind die anderen mit tierischen Geweben in Berührung gewesenen alle trüb und haben einen mehr oder weniger reichlichen Niederschlag von Schwefel auf der Oberfläche des Gewebes gebildet.

Er ist sehr stark bei der Leber, schwächer bei Därmen, gering bei Muskel und bei Sehnen.

Versuch 6. Schüttet man eine kolloide Schwefellösung zu Blutserum, so erhält man sofort einen Niederschlag, der sich auch bildet, wenn das Serum leicht mit Schwefelsäure angesäuert wird. Das beweist, daß wenn die Alkalescenz von organischer Flüssigkeit, wie wir vorher gesehen haben, die Fällung begünstigen kann, sie doch nicht die alleinige Bedingung dafür ist. Behandelt man natürliches Blutserum mit einer sehr verdünnten Lösung und geringer Schwefelmenge, d. h. bei großem Überschuß vorhandener organischer Kolloide, dann erhält man keine Spur von Niederschlag, und die Mischung bleibt völlig klar und durchsichtig.

Auch wenn im vorerwähnten Falle der kolloide Schwefel sich niederschlägt, so doch wohl in Form größerer Körnchen,

die aber immer in den Grenzen kolloider Größe bleiben. Das ist um so wahrscheinlicher, wenn man sich daran erinnert, daß De Bruyn[1]), als er unterschwefligsaures Natron mit einer Säure bei Anwesenheit von Zucker oder Gelatine reagieren ließ, die Fällung des Schwefels wegen der starken inneren Reibung so verzögert sah, daß er von diesem Verfahren als von einer Methode zur Erzeugung kolloiden Schwefels sprechen konnte.

Auch im lebenden Tiere erleidet der kolloide Schwefel eine gründliche und rasche Veränderung, was auf verschiedene Art ersichtlich gemacht werden kann.

Injektion ins Auge (Versuch 19). Bei Injektion eines Tropfens einer 4,6 %igen Lösung in die Vorderkammer eines Kakerlak-Kaninchens sieht durch die Hornhaut die Lösung gelb und klar aus; sie wird beim Ausbreiten im Humor aqueus opalescierend, opak, dann milchig, gelblich-weiß.

Auf die Bindehaut (Versuch 30). Ein Tropfen der klaren Lösung in den Bindehautsack geträufelt, trübt sich in wenigen Sekunden.

In den Magen. Gibt man Hunden mit der Sonde große Mengen kolloiden Schwefels ein, 0,70 g und mehr auf 1 kg des Körpergewichts, so entsteht nach 10 bis 25 Minuten Erbrechen. War das Tier nüchtern, so erbricht es eine gelbe, klare, mit schaumigem Speichel und Schleim gemischte Flüssigkeit, die sehr der gereichten Lösung kolloiden Schwefels gleicht[2]). Das beweist, daß unter diesen Umständen keine tiefe und vollständige Veränderung des Schwefels in physikalischer Beziehung eintritt, doch ist nicht ausgeschlossen, daß ein Teil auf der Magenschleimhaut niedergeschlagen bleibt. Mit Sicherheit habe ich das häufig bei Kaninchen beobachten können (Versuch 32, 34).

Ein 2 oder 3 Tage nüchtern gehaltenes Kaninchen, wird rücklings angebunden, der Magen mit einem mittleren Abdominalschnitt freigelegt, der Blindsack herausgezogen und durch Druck mechanisch entleert. Dann wird er zwischen zwei an den Enden zusammengebundenen Glasstäbchen eingezwängt, so

[1]) l. c.

[2]) L. Sabbatani, Arch. internat. de Pharmacodyn. et de Thérapie **18**, 373 bis 391, 1908.

daß er eine geschlossene Höhlung bildet. Mit der Pravazspritze wird 0,5 ccm der 3,34%igen kolloiden Schwefellösung eingespritzt. Öffnet man den Bauch 5 Minuten später, so findet man einen großen Teil des Schwefels auf der Schleimhaut abgelagert. Durch diesen und andere Versuche habe ich feststellen können, daß der kolloide Schwefel im Magen analoge physikalische Veränderungen erleidet wie auf anderen Schleimhäuten mit alkalischer Sekretion.

Darm (Versuch 28, 30). In eine 6 cm lange, zwischen zwei Ösen isolierte Schlinge des Dünndarms wird 1 ccm kolloider Schwefel zu 4,6% injiziert. Nach 8 Minuten sieht man, daß die eingespritzte Flüssigkeit opak geworden ist. Bei Öffnung der Darmschlinge findet man diese tatsächlich mit einer gelblichweißen Schicht bedeckt; die Flüssigkeit ist trübe geworden und enthält viele gelblichweiße, mit Schleim gemischte Flocken.

Bei mit einem anderen Kaninchen wiederholten Versuch und bei Öffnung der Schlinge 10 Minuten nach der Schwefelinjektion fand sich das vorher Gesagte bestätigt, ebenso bemerkte man bei einer zweiten Schlinge, die $^1/_2$ Stunde später geöffnet wurde, die große physikalische Zustandsänderung des Schwefels noch deutlicher.

Harnblase (Versuch 31). Nach einem Mittelschnitt in der oberen Schamgegend lege ich die Harnblase eines 1,100 kg schweren Kaninchens frei; sie wird entleert und 1 ccm der 3,34%igen Lösung eingespritzt. Augenblicklich sieht man schon von außen einen Niederschlag entstehen, der sich gleich darauf durch Öffnung der Blase kontrollieren läßt. Er wird durch flockiges Gerinnsel gebildet.

Subcutane Einspritzung. Spritzt man einem Albino-Kaninchen eine kolloide Schwefellösung unter die Haut an einer Stelle des Fells, die rasiert und sehr dünn ist, dann kann man durch diese die Veränderung der Lösung wahrnehmen, da bei der Injektion mit klarer Lösung die rosige Farbe der unterhalb liegenden Muskelschicht sichtbar ist. Sobald aber der Schwefel in den hydrogelen Zustand übergeht und niedergeschlagen wird, erscheint an der Stichstelle ein weißlicher Fleck, der ein zweifelloser Beweis der erfolgten Veränderung des physikalischen Zustandes ist. Er bildet sich beinahe augenblicklich, so z. B. beim Versuch 24 in 40 Sekunden und war wirklich

durch den präcipitierten Schwefel entstanden, denn bei einem Hautschnitt an derselben Stelle fand sich eine trübe gelblichweiße Flüssigkeit.

Wenn die physikalische Umwandlung erfolgt und der Schwefel in den hydrogelen Zustand übergegangen ist, wird das Wasser der Lösung aufgesaugt, aber der Schwefel bleibt in festem Zustande an der Injektionsstelle haften und verdichtet sich dort zwischen den Bindegewebsfasern. Dann geht er langsam vom feinstkörnigen, amorphen Zustand in die Krystallform über. Das sieht man deutlich bei einer Reihe von Versuchen an Kaninchen, wobei diese in immer längeren Intervallen nach der Injektion getötet werden und der Zustand des Schwefels zur Untersuchung gelangt.

Beim Versuch 2 tötete ich das Tier 3 Stunden nach der Injektion; an der Stichstelle fand ich einen weißgelben Fleck, und unter dem Mikroskop erwies er sich aus feinsten Schwefelkörnchen bestehend.

Beim Versuch 24 sah man 6 Stunden nach der Injektion unter dem Mikroskop den niedergeschlagenen Schwefel noch in Form kleiner Körnchen. Beim Versuch 3, 3 Tage nach der Injektion, fand man den Schwefel in gut ausgebildeten, aber kleinen Krystallen.

In Versuch 7 tötete ich das Tier 10 Tage nach der Injektion; ich fand den Schwefel zu einer weißgelblichen Masse vereint, die sich mikroskopisch aus großen, gut gebildeten, abgestumpften Schwefelkrystallen bestehend erwies.

Beim Versuch 4 wurde das Tier 11 Tage nach der Injektion getötet. Die mikroskopische Untersuchung ergab schöne und große, in den Bindegewebsfasern des subcutanen Gewebes lagernde Kristalle (Fig. 1)[1]).

Schließlich sah man beim Versuch 11 22 Tage nach der Injektion mit bloßem Auge deutliche, kleine Schwefelkörnchen in den Geweben. Unterm Mikroskop erwiesen sie sich als gut ausgebildete Krystalle mit sauberen Ecken und Kanten von schöner, dem Schwefel eigentümlicher gelber Farbe, von denen einige ziemlich groß waren.

Aus all dem geht hervor, daß der subcutan eingespritzte kolloide Schwefel in wenigen Sekunden in den hydrogelen Zu-

[1]) Vergrößerung mit 187 Durchmesser.

stand, nach einigen Stunden in ein sehr feinkörniges amorphes Präcipitat, nach einigen Tagen in feinste Krystallform übergeht und endlich in beiläufig 10 Tagen sich in Form großer Krystalle findet, in der er noch nach 22 Tagen zu finden war. Es muß jedoch bemerkt werden, daß, soweit man durch direkte Anschauung urteilen kann, am Stichpunkt sich immer weniger Schwefel vorfindet, je längere Zeit seit der Injektion verstrichen ist, was auf einen sehr langsamen Absorptionsprozeß hinweist.

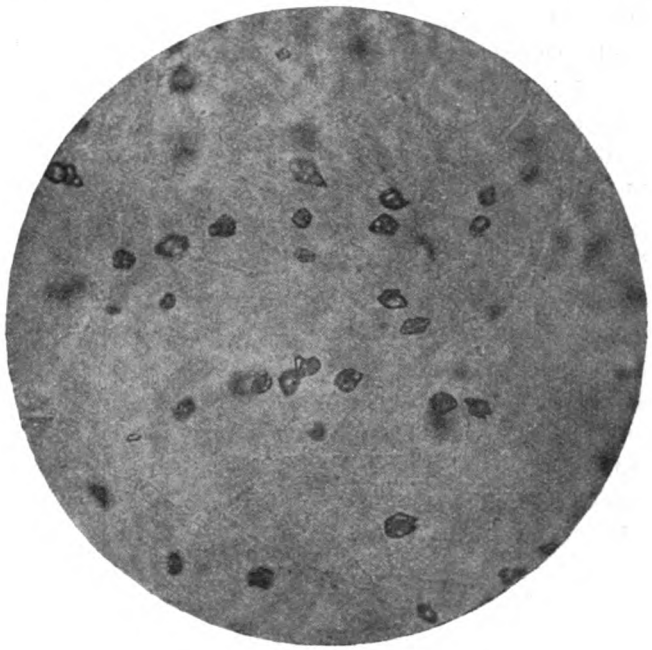


Fig. 1.

Peritoneale Injektion. Auch wenn der kolloide Schwefel ins Bauchfell injiziert wird, geht er sofort aus dem hydrosolen in den hydrogelen Zustand über.

Das kann man bei einem Kaninchen beobachten, dem ein Uhrgläschen an einer auf der Linea alba gemachten Öffnung[1]) befestigt wurde, so daß durch das Gläschen, wie durch ein

[1]) Betreffs der Technik siehe L. Sabbatani, Nuovo metodo per soservare le intestina. Arch. di Fisiologia 6, 265 bis 268, 1909.

Fenster, die Eingeweide direkt zu sehen sind, während die Bauchhöhle ganz geschlossen und dem Luftzutritt unzugänglich bleibt. Wird dann die Injektion so vorgenommen, daß die Nadelspitze unter das Gläschen reicht, dann sieht man die Flüssigkeit ganz klar, durchsichtig und schön gelb gefärbt aus der Nadel herausfließen. Kaum kommt sie aber mit dem Bauchfell in Berührung (gewöhnlich sind Darmschlingen gegen das Glas gedrückt), so wird sie sofort undurchsichtig und nach längstens 2 Minuten trübe und weiß-milchig.

Der sich so niederschlagende Schwefel, der fortwährend durch die Darmbewegung, durch die Atmung und von der Bauchwand in Bewegung gehalten wird, verteilt sich nach und nach über das ganze Peritoneum. Nach ungefähr 3 Stunden hat er das Aussehen von Fäden, Flocken, Wölkchen. Häufchen und kleinen weißgelblichen, oberflächlich an den Eingeweiden oder an der Bauchwand hängenden Gerinnseln.

Der zuerst als Hydrogel sich niederschlagende Schwefel nimmt in ungefähr 24 Stunden (Versuch 13) Körnchenform an, die sich als winzige Schwefelkörnchen auf der ganzen Oberfläche des Bauchfells finden. Diese Körnchen vergrößern sich indessen nie so sehr wie bei den subcutanen Einspritzungen, bei denen der Schwefel in einem sehr begrenzten Raum angehäuft bleibt. In Versuch 15, 10 Tage nach der Peritonealinjektion, war der Schwefel noch gut unterm Mikroskop erkennbar, aber stets in Form kleiner Körnchen. Man nimmt ferner wahr, daß, während der Schwefel subcutan leicht eine reine Krystallform annimmt und schöne, große regelmäßig geformte und sehr durchsichtige Krystalle zeigt, er im Peritoneum nur schwer auskrystallisiert. Wirklich fanden sich selbst nach 28 Tagen beim Versuch 9 nur Spuren winzigster Krystalle.

Man versteht unschwer, daß der im Peritoneum auf großer Oberfläche verteilte und in beständiger Bewegung gehaltene Schwefel nicht die nötigen physikalischen Bedingungen der Menge und der Ruhe findet, um wie unter der Haut zu krystallisieren.

Schließlich ist zu beachten, daß wie bei subcutanen Injektionen, so auch bei intraperitonealen die in situ befindliche Schwefelmenge immer geringer wird, je mehr Zeit seit der Injektion verstrichen ist, und das hier in noch viel höherem

Maße. Da der Schwefel nach und nach, wenn auch sehr langsam, an der Injektionsstelle verschwindet, müssen wir annehmen, daß er resorbiert wird, und dem vorher Gesagten zufolge rascher auf intraperitonealem als auf subcutanem Wege.

Intravenöse Injektion. Aus mit den Versuchen in vitro übereinstimmenden Gründen ist anzunehmen, daß der in die Venen injizierte kolloide Schwefel sich weniger verteilt, aber es fehlt uns die Möglichkeit eines direkten Nachweises, oder ein solcher ist wenigstens technisch sehr schwierig, wenn nicht unmöglich.

Man muß bedenken, daß der auf intravenösem Wege einzuspritzende kolloide Schwefel wegen seiner großen Giftigkeit nur in wenigen Milligramm verwendet werden kann, daß er sich sofort in Schwefelwasserstoff verwandelt und als solcher gleich und reichlich beim Ausatmen ausgeschieden wird. Ferner bedenke man, wie winzig die Schwefelmenge ist, die sich dann noch in freiem Zustand im Blute vorfinden kann, und ferner, daß durch die Bewegung, in der das Blut erhalten wird, durch seinen Reichtum an Kolloiden und seine hohe innere Reibung der Schwefel schwerlich größere Körnchen zu bilden vermag. Diese Umstände insgesamt erklären den Unterschied von dem, was wir in vitro gesehen haben, wenn wir kleine Mengen einer verdünnten Lösung kolloiden Schwefels vielem Serum zusetzen.

Wenn das Präparat Aggregate jener Größe bilden würde, die wir im Schwefel von Heyden und Kahlbaum haben, so würden intravenöse Injektionen ebenso unschädlich wirken, wie die mit diesen Präparaten gemachten.

Durch alle diese Gründe halte ich demnach das für erwiesen, was ich schon in meiner ersten Arbeit[1]) über intravenöse Injektion aussprach, nämlich: „adoperava del solfo colloidale, lo iniettava in forma idrosolica e tale poteva restare nel plasma sanguigno, almeno per quel tempo brevissimo e per quelle dosi minime che erano sufficienti ad ottenere le azioni farmacologiche massime".

[1]) L. Sabbatani, l. c.

III.

Chemische Veränderungen des kolloiden Schwefels im Organismus.

Gibt man Stückchen frischer Organe in ein geschlossenes Gefäß mit kolloidem Schwefel und bringt man im Innern des Gefäßes einen Streifen in Bleiessig getränkten Papiers an, so bemerkt man schon bei Zimmertemperatur die Entwicklung von Schwefelwasserstoff[1]). Er wird schnell und in großer Menge entwickelt, wenn der Schwefel mit Stückchen Leber, Lunge, Nieren, Gehirn vermischt wird, in geringer Menge mit defibriniertem Blut und noch weniger oder gar nicht mit Muskeln. Mit Blut erfolgt eine geringe Entwicklung von Schwefelwasserstoff, weil er größtenteils nach und nach vom Hämoglobin als Schwefelmethämoglobin gebunden wird, was man im Spektroskop wahrnimmt. Wahrscheinlich ist das auch beim Muskel der Fall. Im Gemisch mit Blutserum, mit Milch und mit normalem Harn wird kein Schwefelwasserstoff entwickelt.

Diese Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus kolloidem Schwefel, der in vitro tierischem Gewebe zugesetzt wird, findet ein Seitenstück in Versuchen mit Schwefelblumen und verschiedenen tierischen und vegetabilischen Stoffen von Selmi, de Rey Peilhade und von Heffter und Hausmann[2]).

Ich will dazu nur bemerken, daß bei meinen Kontrollversuchen mit Schwefelblumen, Präcipitat, Schwefel von Heyden und Kahlbaum und Raffos kolloidem Schwefel, die mit Leberbrei vermischt wurden, sich gewöhnlich um so größere Mengen Schwefelwasserstoff entwickelten, je feiner das Schwefelpräparat war.

Diese Umwandlung des Schwefels in Schwefelwasserstoff bei Berührung mit tierischen Geweben in vitro findet sich bei Versuchen am lebenden Tiere stets in identischer Weise, doch erfolgt sie je nach dem Einführungswege mit sehr verschiedener Schnelligkeit.

Durch den Magen. Man weiß aus den Versuchen vieler Autoren, daß auf gastrischem Wege eingeführter Schwefel (Blumen, Präcipitat, Sulfidal) sich im Verdauungskanal in

[1]) L. Sabbatani, l. c.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **5**, 213, 1904.

Schwefelwasserstoff umwandelt. In bezug auf den kolloiden Schwefel fand sich bei meinen ersten Versuchen bei der Sektion von Kaninchen, die infolge großer Dosen starben, im Magen nur eine geringe Menge Schwefelwasserstoff. Der Befund war negativ im Dünndarm, dagegen waren große Mengen im Dickdarm, wahrscheinlich wegen der Verschiedenheit dieser Teile hinsichtlich des Bewegungsvermögens, des chemischen und bakteriellen Inhalts und der Absorptionstätigkeit.

Subcutan. Der auf solche Art eingeführte Schwefel gibt eine so langsame Entwicklung von Schwefelwasserstoff, daß ein sicherer Nachweis schwierig wird. Beim Versuch 24 machte ich 2 Minuten nach der Injektion auf der rechten Seite eine zweite mit 0,5 ccm einer sehr verdünnten Lösung von Bleiessig. 6 Stunden später tötete ich das Tier und fand an einem tieferen Punkte gegen die Leistengegend im subcutanen Gewebe längs der Blutgefäße der Haut kleine braune Flecken, die an der entsprechenden rechten Seite fehlten. Da der kolloide Schwefel und das Präcipitat niemals mit Bleiessig eine schwarze Reaktion gibt, muß diese Färbung vom entwickelten Schwefelwasserstoff herrühren.

Ein identisches Resultat bekam ich beim Versuch 21, als 5 Minuten nach der Injektion von 0,046 g kolloiden Schwefels an derselben Stelle 0,2 ccm einer Bleiessiglösung injiziert wurde.

Beim Versuch 23 spritzte ich unter die Haut der rechten Seite 1 ccm einer Lösung von 4,6 %; nach 5 Stunden wurde das Tier liegend festgebunden und von der Injektionsstelle ein langer Schnitt in die Haut gemacht, um das Bindegewebe freizulegen, zwischen dessen Maschen der Schwefel sich schon als amorphes Präcipitat fand. Den Hautschnitt auseinanderspreizend, befestigte ich auf der Wunde einen kleinen Trichter, mit einem Streifen in Bleiessig getränkten Papiers. Nach $^1/_2$ Stunde sah man den Papierrand zwar schwach, aber ganz deutlich schwarz gefärbt.

Nach einer subcutanen Injektion von kolloidem Schwefel erfolgt die Entwicklung von Schwefelwasserstoff so langsam, daß man ihn in der ausgeatmeten Luft nicht nachweisen kann. Beim Versuch 18 machte ich dem Kaninchen einen Luftröhrenschnitt und ließ es durch das Müllersche Ventil atmen, wobei ich mit Essigsäure angesäuerten Bleiessig in das Ausatmungsventil gab, um mich zu überzeugen, daß dieses Kaninchen im normalen Zustande keinen Schwefelwasserstoff ausschied. Dann

injizierte ich rechtsseitig subcutan 0,046 g kolloiden Schwefel, doch zeigte das Reagens unter fortgesetzter Beobachtung der ausgeatmeten Luft nicht die geringste Spur von Schwefelwasserstoff.

Auch der wiederholte Versuch 3 ergab ein negatives Resultat.

Auf intraperitonealem Wege. Bei Injektion von kolloidem Schwefel ins Bauchfell beginnt sofort eine viel stärkere Entwicklung von Schwefelwasserstoff als auf subcutanem Wege, die durch viele Tage ziemlich kräftig anhält, so lange sich Schwefel vorfindet.

Beim Versuch 17 befestigte ich eine Kanüle derartig auf der Linea alba des Kaninchens, daß die Bauchhöhle mit einer dünnwandigen, halbwegs luftgefüllten Gummibirne in Verbindung stand und so auch Luft in die Bauchhöhle eintrat, wodurch ein bei den Atmungsbewegungen oszillierender Gleichgewichtszustand zwischen der Spannung der Bauchwand und der Gummibirne erzielt wurde. Bei jedesmaligem Einatmen trat ein wenig Luft aus dem Peritoneum in die Gummibirne und kehrte beim folgenden Ausatmen dahin zurück. Zwischen den Gummiverbindungsröhrchen und der Gummibirne wurde eine Glasröhre angebracht, in der ein Bleiessigpapierstreifen aufgehängt war. Derart konnte ich feststellen, daß vom mit etwas eingeschlossener Luft in Berührung stehenden Peritoneum in normaler Weise kein Schwefelwasserstoff entwickelt wird. Darauf injizierte ich ins Peritoneum 0,046 g kolloiden Schwefel; 4 Minuten später war das Bleiessigpapier schon geschwärzt.

In Versuch 20 wurde das Kaninchen 3 Stunden nach der Injektion von 0,23 g kolloidem Schwefel ins Bauchfell getötet und nach Öffnung des Leibes der anwesende Schwefelwasserstoff durch Bleiessigpapier konstatiert. Auf gleiche Art konnte ich beim Versuch 15 10 Tage nach Injektion von 0,23 g kolloidem Schwefel sehr gut Schwefelwasserstoff nachweisen.

Obwohl nach einer Injektion ins Peritoneum die Entwicklung von Schwefelwasserstoff viel stärker auftritt als bei der subcutanen, ist sie doch nicht so groß, daß man ihn in der ausgeatmeten Luft erkennen könnte. Tatsächlich prüfte ich beim Versuch 20 die ausgeatmete Luft wie bei Versuch 18 durch 3 Stunden hindurch nach der Injektion ins Peritoneum mit gänzlich negativem Resultat.

Auf intravenösem Wege. Bei intravenösen Injektionen verwandelt sich der kolloide Schwefel sogleich und wahrscheinlich vollständig in Schwefelwasserstoff. Analysiert man die ausgeatmete Luft, so findet man tatsächlich eine große Menge Schwefelwasserstoff, und ich habe seine Anwesenheit schon 1 Minute nach der Injektion von ungefähr 2 mg Schwefel sicher nachweisen können.

IV.

Giftigkeit des kolloiden Schwefels.

Vom Magen wird der kolloide Schwefel sehr gut und in großen Dosen vertragen. Bei Hunden verursachen 0,04 g auf 1 kg Körpergewicht weder eine lokale noch eine allgemeine Störung; 0,70 g oder mehr per Kilogramm ruft Erbrechen hervor. Diesem geht keine langdauernde und qualvolle Übelkeit voraus, sondern es stellt sich plötzlich, zwei- bis dreimal ein, bis der Magen entleert ist; gleich darauf zeigt sich das Tier wieder munter und frißt mit Appetit.

Für Kaninchen ist der kolloide Schwefel bis 0,10 g per Kilogramm Körpergewicht ganz unschädlich; wenig mehr als 0,20 g wirken tödlich. 4 bis 5 Stunden befindet sich das Tier wohl, aber dann stellt sich Durchfall ein, dem bald Krämpfe, darauf Depression und Paralyse folgen; der Tod tritt infolge Lähmung des Atmungszentrums ein. Der in der Blase enthaltene Urin ist sehr sauer und reich an Sulfaten.

Im Magen entwickelt sich nur wenig Schwefelwasserstoff, der eine leichte Reizung hervorruft; diese ist bei Hunden die Ursache des Erbrechens, wodurch sie auch bei sehr starken Gaben einer Vergiftung entgehen. Bei Kaninchen hingegen, die nicht erbrechen können, tritt der Schwefel in den Darm und gibt dort wegen des längeren Verweilens und wegen der dort obwaltenden örtlichen Verhältnisse zu reichlicher Entwicklung von Schwefelwasserstoff Anlaß, verursacht Durchfall und eine allgemeine Vergiftung.

Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die vom kolloiden Schwefel auf den Darm bewirkte starke Reizung, wenn sie auch hauptsächlich der Entwicklung von Schwefelwasserstoff zugeschrieben werden kann, doch vielleicht teilweise auf einer direkten Wirkung auf die Darmschleimhaut beruht. Nach Injektion von kolloidem Schwefel (Versuch 26, 27) in

eine isolierte Schlinge des Dünndarms eines Kaninchens findet man sie nach 1 Stunde mit einer stark alkalischen trüben Flüssigkeit gefüllt, die viele suspendierte vom Epithelgewebe herrührende Flocken enthält. Die Schleimhaut ist gerötet, etwas aufgedunsen, von einer dünnen, weißlichen, pulverartigen Schicht bedeckt, die auf gefällten Schwefel zurückzuführen ist. Bei solchen Versuchsbedingungen gibt die im Darm enthaltene Flüssigkeit keine oder nur geringste Spuren einer Schwefelwasserstoffreaktion, weshalb als wahrscheinlich angenommen werden kann, daß der das Epithel reizende und zerstörende Faktor der kolloide Schwefel ist.

Gibt man aber den Schwefel per os ein, dann gelangt er nicht mehr als Hydrosol und in starker Konzentration in den Darm, sondern schon niedergeschlagen und wesentlich verdünnt. Aus diesem Grunde ist wohl der Schluß berechtigt, daß er an und für sich eine so heftige Reizung nicht hervorbringen kann, wie sie durch direkte Einwirkung bei einer isolierten Darmschlinge beobachtet wird.

Ein großer Teil des im Dickdarm reichlich entwickelten Schwefelwasserstoffs wird resorbiert, oxydiert und geht als Schwefelsäure in den Harn. Das allgemeine Bild der Intoxikation kann wegen des langsamen Verlaufs und wegen der auftretenden Symptome als von einer gleichzeitigen sauren und durch Schwefelwasserstoff erfolgten Vergiftung herrührend angesehen werden.

Auf subcutanem und intraperitonealem Wege eingegebener Schwefel wird auch in Mengen von 0,10 g per Kilogramm Körpergewicht (Tabelle I) recht gut vertragen, doch will ich nicht verneinen, daß bedeutend größere Dosen auch den Tod herbeiführen können. Eine ungefähr 160 g schwere weiße Ratte, der 1 ccm der Lösung zu 4,6% (0,28 g Schwefel per Kilogramm Gewicht) unter die Rückenhaut injiziert wurde, zeigte anfangs keinerlei Beschwerden, doch am nächsten Tage fand man sie tot.

Gleich nach der Injektion und auch die folgenden Tage sind die Kaninchen munter und fressen gierig. Ich tötete sie stets durch einen Stich ins verlängerte Mark kürzere oder längere Zeit nach der Injektion (4 Minuten bis 28 Tage später), um das Bauchfell oder das darunterliegende Gewebe an der Injektionsstelle zu untersuchen.

Tabelle I.

Versuche mit kolloidem Schwefel als subcutane und intraperitoneale Injektion bei Kaninchen.

Nummer	Datum	Gewicht des Tieres kg	Injektion von kolloidem Schwefel: Einführungsweg	Lösung %	ccm	g	per Kilogramm g	Bemerkungen
3	23. XI. 12	2,210	subcutan	4,6	1	0,046	0,021	Nach 3 Tagen getötet.
4	27. XI. 12	2,090	„	4,6	1	0,046	0,022	„ 11 „ „
2	23. XI. 12	2,000	„	4,6	1	0,046	0,023	„ 3 Stunden „
13	16. XII. 12	1,950	intraperitoneal	4,6	1	0,046	0,024	„ 24 „ „
17	28. XII. 12	1,500	„	4,6	1	0,046	0,031	„ 4 Minuten „
18	29. XII. 12	1,500	subcutan	4,6	1	0,046	0,031	„ 3 Stunden „
7	8. XII. 12	1,450	„	4,6	1	0,046	0,032	„ 10 Tagen „
9	12. XII. 12	1,420	„	4,6	1	0,046	0,032	„ 28 „ „
24	13. I. 13	1,200	„	4,6	1	0,046	0,038	„ 6 Stunden „
15	18. XII. 12	2,400	intraperitoneal	4,6	5	0,230	0,096	„ 10 Tagen „
16	18. XII. 12	2,100	subcutan	4,6	5	0,230	0,109	„ 22 „ „
20	30. XII. 12	2,070	intraperitoneal	4,6	5	0,230	0,111	„ 3 Stunden „

Bei spät vorgenommener Untersuchung bemerkte man nur eine unbedeutende und vorübergehende Abnahme des Körpergewichtes (Tabelle II).

Tabelle II.

Gewichtsunterschiede bei Kaninchen nach subcutanen und intraperitonealen Injektionen bei Kaninchen.

Verstrichene Zeit vom Beginn der Injektion Tage	Gewichtsunterschiede der Kaninchen bei den Versuchen: 9	15	16
0	1,420	2,400	2,100
4	1,400	—	—
10	—	2,170	1,920
16	1,500	—	—
22	—	—	2,000
28	1,520	—	—

Die Injektion ins Peritoneum ruft keine wahrnehmbare lokale Reizung hervor, jedoch treten subcutane Reizzustände auf, die auch bei anderen Schwefelpräparaten beobachtet wurden [Delehaye und Piot[1])]. Sie verursacht eine starke Hyper-

[1]) l. c.

ämie, leichte und ausgebreitete Blutunterlaufungen, keine Abscesse, kein Ödem; bemerkbar ist nur der von der Injektionsflüssigkeit erzeugte Sack, der die Gewebe auseinandergedrängt zu haben scheint. Selbst beinahe 1 Monat nach der Injektion findet man bei der Sektion an der Stichstelle eine Art Höhle, in welcher der noch nicht resorbierte Schwefel liegt. Die lokalen Reizerscheinungen nehmen langsam ab, und nach längerer Zeit haben die Gewebe normale Färbung und Aussehen, nur einige Bindegewebestränge sind etwas verdickt. Ist lange Zeit verstrichen, so werden nie deutliche Entzündungsmerkmale wahrgenommen.

Läßt man nach dem Tode des Kaninchens einige Stunden bis zur Autopsie verstreichen, so nehmen die Gewebe auch in der kalten Jahreszeit, wo es sich nicht um Leichenzersetzung handeln kann, rings um die Injektionsstelle eine intensiv grüne Farbe wie von Schwefelwasserstoff an. Ohne von der Lymphe oder dem Blute in den Kreislauf gebracht zu werden und ohne oxydieren zu können, entwickelt er sich in situ weiter und verbleibt daselbst.

Auf intravenösem Wege. Spritzt man eine verdünnte Lösung kolloiden Schwefels in die Jugularis eines Kaninchens, so bemerkt man sofort eine starke Verminderung der Herzschläge. Hierauf wird das Tier unruhig, weist abnorme Reflexe, sehr heftige allgemeine Krämpfe auf, denen eine vollständige Lähmung, Verschwinden der Reflexe und Atmungsstillstand folgen. Das Herz schlägt jedoch noch kräftig weiter, und der Blutdruck bleibt einige Zeit auch nach Versagen der Atmung ziemlich hoch.

Die tödliche Dosis ist je nach dem Tempo der Injektion sehr verschieden, doch handelt es sich immer um Milligramme (von 0,0065 zu 0,0203). Bei langsam vorgenommener Injektion entwickelt sich der Schwefelwasserstoff nur allmählich, das Tier hat Zeit, ihn auszuscheiden und verträgt deshalb höhere Dosen, bei rascher Injektion hingegen bildet er sich schnell, und auch kleinere Gaben von kolloidem Schwefel wirken tödlich. Der Tod erfolgt stets, wie ich schon erwähnt habe, wegen der bei der Injektion von kolloidem Schwefel in die Venen sofort einsetzenden Entwicklung von Schwefelwasserstoff.

V.

Beziehungen zwischen den Veränderungen des physikalischen Zustandes, der Entwicklung von Schwefelwasserstoff und der pharmakologischen Wirkung des kolloiden Schwefels.

Aus all dem, was über die Veränderungen des physikalischen Zustandes gesagt wurde, die der kolloide Schwefel im Organismus erleidet, ersieht man, daß er, ob auf gastrischem, subcutanem, intraperitonealem oder intravenösem Wege eingeführt, bei bloßer Berührung mit den Geweben oder dem Blute den hohen Dispersitätsgrad einbüßt und in einen kolloiden Zustand minderen Grades übergeht, und zwar vom hydrosolen zum hydrogelen, vom kolloiden zum feinsten, körnigen, amorphen Präcipitat, und endlich vom amorphen in den krystallinischen Zustand. Die ersten Veränderungen erfolgen mit größter Schnelligkeit in kaum einigen Sekunden, die anderen immer langsamer; zum krystallinischen Zustand gelangt er erst nach einigen Tagen. Die zuerst sehr kleinen und zahlreichen Krystalle nehmen an Zahl ab, aber an Größe zu.

Kurz, der Schwefel geht aus der dispersen Phase in eine feste und später aus der amorphen Form in die krystallinische über. Diese letzte Umwandlung läßt uns an eine dritte flüssige Phase denken, da die Bildung großer und gutgestalteter Krystalle nicht von der materiellen Vereinigung von Partikeln oder kleinen Krystallen herrühren kann, die außerdem zwischen Gewebemaschen mechanisch festliegen, sondern nur von Schwefel in molekularem Zustande. Dieser Gedankengang führt zu der Vermutung, daß eine echte Schwefellösung in der wässerigen Gewebsflüssigkeit vorhanden ist, die mit der landläufigen Meinung über die Unlöslichkeit des Schwefels im Wasser etwas in Widerspruch steht, aber durch einige in der chemischen Literatur[1]) beschriebene Tatsachen gestützt wird. Auch bei den echten wässerigen Lösungen kolloiden Schwefels ist man geneigt, neben der dispersen eine flüssige Phase anzunehmen, weil sie, längere Zeit aufbewahrt, langsam einen Teil des Schwefels in Krystallform ausscheiden. In den durch Schmelzen bereiteten Schwefelsalben[2]) findet sich der Schwefel in feinster

[1]) O. Bütschli, Zeitschr. f. Krystallographie **31**, 277 bis 279, 1899.

[2]) L. Sabbatani, Über durch Schmelzen bereitete Schwefelsalben. Kolloid-Zeitschr. **13**, 249 bis 252, 1913.

Verteilung, so daß er der kolloiden Größe sehr nahe steht. Obwohl die Schwefelkörnchen im Salbenkörper unbeweglich festliegen, verschwinden sie nach und nach vollständig und werden durch häufig umfangreiche Krystalle ersetzt. Auch hier sehen wir drei Phasen gleichzeitig bestehen: die disperse, die feste und die flüssige, welch letztere man in diesem Falle unschwer zugestehen kann, da der Schwefel bekanntlich in Fetten einigermaßen löslich ist.

In Übereinstimmung hiermit könnte man annehmen, die Krystallbildung in den Geweben hinge von der Löslichkeit des Schwefels in Fetten oder in Lipoiden ab, doch scheint dies hinsichtlich des Sitzes und der Größe der Krystalle unzulässig.

Berücksichtigt man die stufenförmige und unmerkliche Veränderung des physikalischen Zustandes beim Übergang aus dem festen Zustand zum dispersen und von diesem zur echten Lösung[1]), dann scheint es richtiger, eine flüssige Phase des Schwefels in der wässerigen Organflüssigkeit zuzugeben. Gewiß würde es sich um eine äußerst schwache Lösung handeln, der man keine lokale und allgemeine pharmakologische Wirkung zuschreiben könnte, die man sonst mit dem Schwefel erzielt.

Folgt man diesem Gedankengang, dann nimmt das pharmakologische Studium des Schwefels eine ganz neue Richtung an, die ich gegenwärtig nicht erörtern will. Wenn die Annahme einer wässerigen flüssigen Phase auf Grund des Gesetzes von Meyer und Overton richtig ist, so müssen wir auch eine andere in den Lipoiden zugestehen, wie die Beobachtungen bei den Schwefelsalben lehren. Sie wird dann pharmakologisch um so richtiger sein, je größer die Löslichkeit des Schwefels in Fetten ist und ein je höherer Verteilungskoeffizient in den zwei flüssigen Phasen besteht. Und während ich der festen Meinung bin, daß die Löslichkeit des Schwefels in Wasser an und für sich biologisch ohne Belang ist, würde ich über die Löslichkeit in den Lipoiden nicht das gleiche zu sagen wagen.

All das bietet ein interessantes Gebiet für weitere Untersuchungen, die heute hauptsächlich mit dem kolloiden Schwefel unternommen werden könnten. Unabhängig hiervon steht fest, daß wir schon durch die bei Berührung mit Geweben hervor-

[1]) A. Righi, Le nuove vedute sull' intima struttura della materia. Bologna, V. Zanichelli, 1908.

gerufene Entwicklung von Schwefelwasserstoff einen unmittelbaren und hinreichenden Grund für die lokale und allgemeine Wirkung des kolloiden Schwefels finden, obwohl immer noch die Erklärung für die Giftigkeit des Schwefelwasserstoffs aussteht.

Die Schnelligkeit der Reaktion, durch die der Schwefel bei Berührung mit Geweben sich in Schwefelwasserstoff verwandelt, ist um so größer, je höher der Dispersitätsgrad des Schwefels steht, weil sie ceteris paribus eine Funktion der Schwefeloberfläche ist. Deswegen ist je nach dem Wege der Einführung die Entwicklung von Schwefelwasserstoff um so reichlicher, einen je größeren Dispersitätsgrad der Schwefel besitzt. Bei intravenösen Injektionen bleibt er kolloid, die Umwandlung in Schwefelwasserstoff ist in wenigen Sekunden eine vollständige, und das Tier stirbt unter den Symptomen einer höchst intensiven Schwefelwasserstoffvergiftung. In den Magen eingeführt, geht der Schwefel in den amorphen Zustand über, und die Umwandlung in Schwefelwasserstoff erfolgt langsam, das Tier stirbt erst nach vielen Stunden und zeigt außer den Anzeichen einer Schwefelwasserstoffvergiftung auch solche einer Säurevergiftung, weil ein großer Teil des Schwefelwasserstoffs während seiner langsamen Entwicklung zu Schwefelsäure oxydiert wird. Bei intraperitonealer Injektion geht der Schwefel nur schwer und erst nach vielen Tagen in Krystallform über und bleibt auf dem ganzen Bauchfell verteilt; er entwickelt reichlich Schwefelwasserstoff, aber nicht genug, um toxische Erscheinungen hervorzurufen. Auf subcutanem Wege einverleibt, krystallisiert er in großen Krystallen aus, bleibt auf eine engbegrenzte Stelle beschränkt und entwickelt daher nur eine geringe Menge Schwefelwasserstoff, ohne irgendwelche toxische Wirkung auszuüben.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der kolloide Schwefel beim Einführen in den Organismus eine Umwandlung seines physikalischen Zustandes und gleichzeitig eine chemische Umbildung in Schwefelwasserstoff erleidet.

Wenn infolge der Versuchsbedingungen die Schnelligkeit der physikalischen Veränderung geringer ist als die der chemischen, so erweist er sich als höchst giftig. Wenn hingegen erstere rascher vor sich geht, wird er in sehr beträchtlicher Menge gut vertragen, und um so besser, je weiter der Zeitpunkt der Einverleibung des kolloiden Schwefels zurückliegt.

Wirkung der auf chemischem Wege bereiteten kolloiden Kohle.

Von

L. Sabbatani.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. Universität zu Padua.)

(Eingegangen am 2. Januar 1914.)

Als ich voriges Jahr die pharmakologische Wirkung der kolloiden Kohle studieren wollte, ging ich bei ihrer Herstellung von der wasserentziehenden Reaktion der konzentrierten Schwefelsäure auf Rohrzucker aus und erhielt sie in zwei Formen: in Lösungen von verschiedenem Dispersitätsgrad und in gelatinösem Zustand. Da letztere sich nur schwer in Gegenwart von Alkalien löst, habe ich in den folgenden Versuchen immer die gelöste kolloide Kohle[1]) verwendet und jene Lösungen gewählt, die die gleichmäßigsten Körnchen und einen sehr hohen Dispersitätsgrad besaßen[2]). Diese wegen der vorhandenen Schwefelsäure etwas sauren Lösungen wurden vollständig durch kohlensaures Natron neutralisiert, mit $1\,^0/_0$igem Kochsalz versetzt und bei 100^0 sterilisiert.

Die ersten Resultate teilte ich der Accademia Medica in Padua (11. IV. 1913)[3]) und später auf dem Wissenschaftlichen Kongreß in Siena[4]) mit; aus diesen ging klar hervor, daß die

[1]) L. Sabbatani, Auf chemischem Wege erhaltene kolloide Kohle. Kolloid-Zeitschr. (Im Druck.)

[2]) Die Körnchen sind kaum bei 1000facher und höherer Vergrößerung wahrnehmbar, doch sieht man sie und ihre lebhaften Brownschen Bewegungen im Ultramikroskop sehr gut.

[3]) L. Sabbatani, Alcune esperienze sul carbone colloidale. Comunicazioni all' Accademia Medica di Padova, 11 Aprile 1913. Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche **34**, 498, 1913.

[4]) L. Sabbatani, Esperienze sult carbone colloidale. Comunicazione al Congresso della Società per il progresso delle Scienze. VII Riunione, Siena, 23 Settembre 1913.

kolloide Kohle weder subcutan noch intravenös eingeführt giftig wirkt.

Darauf haben Izar und Patané[1]) eine Arbeit über die physiologische Wirkung des von Vanzetti[2]) auf elektrischem Wege bereiteten kolloiden Kohlenstoffes veröffentlicht, die die toxische Wirkung des intravenös eingeführten Kohlenstoffs zu beweisen sucht.

Kürzlich habe ich an Kaninchen die Adsorptionsfähigkeit meiner kolloiden Kohle gegenüber Strychnin und die darauf beruhende antitoxische Eigenschaft derselben erforscht[3]). Diese ist bedeutend, wenn man die Kohlelösung in vitro mit Strychnin mischt und subcutan einspritzt, bei intravenöser Injektion derselben Mischung bleibt sie jedoch aus.

Die Wirkung kolloider Kohle auf Kaninchen habe ich mit subcutanen, intravenösen und trachealen Injektionen untersucht und immer die möglichst reinen, titrierten, sehr beständigen Lösungen von hohem Dispersitätsgrad benutzt. Sie wurden durch Kochen sterilisiert und stets unter den nötigen antiseptischen Vorsichtsmaßregeln injiziert. Bei intravenösen Injektionen oder sehr großen Mengen fügte ich 1% Kochsalz hinzu.

Da während dieser Untersuchungen kein einziges Tier starb, stellte ich nach einiger Zeit die Beobachtung ein und tötete die Tiere durch einen Stich ins verlängerte Mark, um durch die Sektion das Verhalten der kolloiden Kohleninjektion zu bestimmen.

Versuch 1.

Kaninchen, 1,350 kg schwer. Subcutan wird in die Seite 1 ccm der Lösung von 1 : 1000 eingespritzt. Am folgenden Tage wird das Tier getötet und das subcutane Bindegewebe an der Stichstelle untersucht.

---

[1]) G. Izar und C. Patané, Über die physiologische Wirkung des kolloiden Kohlenstoffs. Diese Zeitschr. **56**, 307 bis 318, 1913 (23. Oktober 1913).

[2]) B. L. Vanzetti, Sul prodotto di disgregazione degli anodi di carbone in liquidi acidi. Atti del R. Istituto Veneto di Scienze ecc. 72, 445 bis 450, 1057 bis 1064, 1065 bis 1071, 1912/1913. — Über das Produkt der elektrolytischen Zerstäubung der Kohlenanode und die Existenz von kolloidem Kohlenstoff. Kolloid-Zeitschr. **13**, 6 bis 9, 1913.

[3]) L. Sabbatani, Azione adsorbente ed antidotica del carbone colloidale sulla stricnina. Arch. di Fisiologia **11**, 518 bis 524, 1913.

Man sieht schon von außen einen großen schwarzen Fleck unter der Haut. Sobald diese abgezogen ist, wird ein ausgebreiteter, ringsum verschwommener braunschwarzer Fleck im Bindegewebe sichtbar. Dieses, in physiologischer Lösung lazeriert, zeigt gelbbraun gefärbte Bindegewebsfasern und einzelne freiliegende schwarze Klümpchen. Auch in den fixen Bindegewebszellen und Wanderzellen finden sich winzig kleine Körnchen. Ein Teil dieser Zellelemente ist gleichförmig braunschwarz gefärbt, andere enthalten bloß einzelne schwarze Körnchen.

Versuch 2.

Kaninchen, 1,300 kg schwer. In die Seite wird subcutan 1 ccm der Lösung 1 : 1000 eingespritzt. An der Stichstelle sieht man schon von außen einen schwarzen Fleck, der nach 8 Tagen noch recht gut sichtbar ist. Das Tier wird getötet. Die Sektion und die histologische Untersuchung des Bindegewebes ergeben den gleichen Befund wie beim vorhergehenden Versuch.

Versuch 3.

Kaninchen, 1,350 kg schwer. Man injiziert subcutan in die Seitengegend 1 ccm der Lösung, die im Verhältnis 1 : 1000 verdünnt ist. An der rasierten Stichstelle sieht man während der Injektion die schwarze Färbung durchscheinen; sie bildet einem schwarzen, dauernden und auch die folgenden Tage gut sichtbaren Fleck, der noch nach 15 Tagen, wenngleich undeutlich, wahrgenommen wird. Nachdem das Tier getötet und das Fell abgezogen worden ist, findet man im Bindegewebe einen tiefschwarzen, ringsum verwaschenen Fleck von angefähr 2 cm Durchmesser. Es zeigt sich keine Spur einer lokalen Reaktion der Gewebe.

Versuch 4.

Kaninchen, 1,250 kg schwer. In die linke Seite wird 1 ccm der Lösung von 1 : 1000 eingespritzt.

Der Fleck ist durch die Haut gut sichtbar und verschwindet nach und nach, so daß er nach 30 Tagen nicht mehr sicher erkennbar ist. Dem getöteten Tier zieht man das Fell ab und bemerkt an der Stichstelle im perimuskulären Bindegewebe einen schwarzen, ausgebreiteten, an den Rändern verwaschenen unzusammenhängenden Fleck länglicher Form von ungefähr 4 cm Länge und 2 cm Breite.

Versuch 5.

Kaninchen, 1,600 kg schwer. Unter die Haut wird seitlich 1 ccm der Lösung von 1 : 1000 eingespritzt. Dieses Tier hat wie die vorhergehenden nie irgendeine lokale oder allgemeine Störung gezeigt. In den ersten drei Tagen konstatierte man an der rasierten Stichstelle den durchscheinenden tiefschwarzen, von der Kohle herrührenden Fleck, der aber nach und nach verblich, so daß er nach 48 Tagen nicht mehr mit Sicherheit festzustellen war. Nachdem das Tier getötet und gehäutet war, fand man im Bindegewebe einen braunschwarzen Fleck mit verschwommenen Konturen von ungefähr 2 cm Durchmesser.

Versuch 6.

Kakerlak-Kaninchen, 1,650 kg schwer. In die linke Seite wird 1 ccm der Lösung von 1 : 1000 injiziert. Man sieht unter der Haut sehr gut den durchscheinenden schwarzen, durch die Injektion bewirkten Fleck. Das Kaninchen, weiblichen Geschlechts, ist immer wohlauf; nach 14 Tagen wog es 1,700 kg und warf nach 26 Tagen 6 gut ausgebildete Junge. 30 Tage nach der Einspritzung sieht man noch den schwarzen Fleck durchscheinen, der aber an Umfang viel kleiner als zu Anfang ist.

Nach 62 Tagen wurde das Tier getötet, und unter dem abgezogenen Fell bemerkt man noch einen am Rande verwaschenen Fleck von ungefähr 1 cm Durchmesser im subcutanen Bindegewebe, das übrigens ein ganz normales Aussehen hat.

Versuch 7.

Kaninchen, 1,050 kg schwer. Dem senkrecht gehaltenen Tier wird 1 ccm der Lösung von 1 : 1000 in die Trachea eingespritzt. Es zeigt keine Störung des Allgemeinbefindens und wird am folgenden Tage getötet. Bei der Sektion erkennt man, daß die Kohle nicht absorbiert worden war, sondern in der Lunge braune, ausgebreitete Flecke erzeugt hatte, von denen einige ausgesprochen schwarz gefärbt waren.

Versuch 8.

Kaninchen, 1,040 kg schwer. In die Jugularis werden innerhalb 2 Min. 30 Sek. 13 ccm einer Lösung von ungefähr 1 : 1000 eingespritzt. Man beobachtete weder sofort noch in den folgenden Tagen irgendwelche Beschwerden.

Versuch 9.

Kaninchen, 1,250 kg schwer. Innerhalb 5 Min. werden in die Jugularis 25 ccm der Lösung 1 : 1000 injiziert. Das Tier ist immer wohlauf, der Harn normal.

Versuch 10.

Kaninchen, 1,000 kg schwer. Im Verlauf von 7 Min. werden in die rechte Jugularis 25 ccm der Lösung mit einem Konzentrationsgehalt von ungefähr 1 : 1000 eingespritzt. Das Tier hat nie irgendeine Störung im Befinden erkennen lassen. Nach 10 Tagen wog es 1,000 kg, worauf die Beobachtung eingestellt wurde.

Versuch 11.

Kaninchen, 1,500 kg schwer. Während 7 Min. 10 Sek. werden in die rechte Jugularis 25 ccm der Lösung, die im Verhältnis von 2,44 : 1000 verdünnt ist, eingespritzt. Nach der Injektion zeigt das Tier keinerlei nennenswerte Störung des Gesundheitszustandes und ist auch die folgenden Tage wohlauf, nur scheint es etwas unlustig und frißt wenig. Nach 5 Tagen wird es getötet. Bei der Sektion zeigt die Lunge eine diffuse braune Farbe.

Die histologische Untersuchung der Eingeweide lehrt, daß die braune Färbung von der Fixierung der kolloiden Kohle in den Endothelzellen der Lungengefäße herrührt.

Die gleiche Fixierung bemerkt man auch im Endothel der Leber- und Nierengefäße.

Versuch 12.

15. XI. 13. Kaninchen, 1,500 kg schwer. Innerhalb 6 Min. 55 Sek. werden in die rechte Jugularis 25 ccm der Lösung (2,44 : 1000) eingespritzt. Während der Injektion und später ist das Tier wohlauf, und es ist nie irgendeine Beeinträchtigung des Befindens eingetreten. Am 24. XI. 13 (nach 9 Tagen) wog es 1,650 kg. Am 2. XII. 13 (nach 14 Tagen) wird es getötet, und man findet bei der Sektion die Lunge gleichmäßig kaffeebraun gefärbt. Unter dem Mikroskop zeigt sich auch in der Leber eine Fixierung der Kohle wie beim Versuch 11.

Die Ergebnisse vorstehender Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Versuch	Kaninchen im Gewicht von kg	Einspritzung	Lösung ‰	Lösung ccm	Kolloide Kohle g	Kolloide Kohle per kg g	Bemerkungen	Sektion nach Tötung des Tieres durch einen Stich ins verlängerte Mark
1	1,350	subcutan	1,00	1	0,001	0,0007	Keine Störung	Nach 1 Tag: Man sieht deutlich den schwarzen Fleck im Bindegewebe.
2	1,300	do.	1,00	1	0,001	0,0008	do.	Nach 8 Tagen: Starker schwarzer Fleck.
3	1,350	do.	1,00	1	0,001	0,0007	do.	Nach 15 Tagen: Etwas kleiner gewordener schwarzer Fleck.
4	1,250	do.	1,00	1	0,001	0,0008	do.	Nach 30 Tagen: Man sieht den etwas kleineren Fleck noch sehr gut.
5	1,600	do.	1,00	1	0,001	0,0006	do.	Nach 48 Tagen: Der Fleck ist stark verblaßt.
6	1,650	do.	1,00	1	0,001	0,0006	do.	Nach 62 Tagen: Es findet sich noch ein kleiner Fleck.
7	1,050	tracheal	1,00	1	0,001	0,0009	do.	Nach 1 Tag: Lunge mit braunschwarzen Flecken.
8	1,040	intravenös	1,00	13	0,013	0,0120	do.	—
9	1,250	do.	1,00	25	0,025	0,0200	do.	—
10	1,000	do.	2,00	25	0,050	0,0500	do.	—
11	1,500	do.	2,44	25	0,061	0,0410	do.	Nach 5 Tagen: Kohlenfixierung im Endothel der Gefäße der Lunge, der Leber und der Niere. Lunge braun.
12	1,500	do.	2,44	25	0,061	0,0410	do.	Nach 17 Tagen: Die Lungen braun gefärbt.

Aus den vorstehenden Versuchen ist ersichtlich, daß die subcutan, direkt in die Luftröhre oder in die Venen injizierte kolloide Kohle durchaus ungiftig ist, von den Tieren sehr gut vertragen wird und keinerlei bemerkbare lokale oder allgemeine Störung hervorruft. Auch bei einer in die Venen rasch vor-

genommenen Einspritzung von 41 mg auf 1 kg Körpergewicht habe ich nichts Bemerkenswertes wahrgenommen.

Zur größeren Sicherheit des Befundes wäre es erwünscht gewesen, die Untersuchung auf höhere Dosen auszudehnen; doch unterließ ich dies, weil es beim Studium einer augenscheinlich ganz inaktiven Substanz nicht angezeigt scheint, den schon an und für sich die größte Vorsicht erfordernden Versuch durch Einspritzung einer großen Flüssigkeitsmenge zu erschweren. Andererseits ist es nicht möglich, sehr konzentrierte und gleichzeitig sehr stabile Lösungen kolloider Kohle herzustellen; das Maximum, das ich erreichen konnte, waren 4,22 %.

Wenn wir das Verhalten der kolloiden Kohle beobachten, finden wir, daß sie an der Stichstelle haften bleibt, und zwar, wenn subcutan, im Bindegewebe, in der Lungenschleimhaut, wenn tracheal eingeführt. Auch bei direkter Injektion ins Blut bleibt sie im Kreislauf, fixiert vom Endothel der Gefäße. Da sie keine lokale Wirkung ausübt, kann sie auch keine allgemeine und direkte Wirkung hervorbringen. Aus diesen Gründen erscheint es zwecklos, sie in größeren Mengen und höherer Konzentration zu untersuchen.

Wir können demnach sagen, daß sie nicht oder äußerst langsam absorbiert wird, so daß 1 mg Kohle selbst nach 2 Monaten einen schönen schwarzen Fleck im Bindegewebe hinterläßt.

Immerhin wird der Fleck stets undeutlicher, verbleicht und verschwindet, wie es bei Tätowierungen auf die Haut mit Kohlenpulver, Ruß oder Tusche zu geschehen pflegt[1]).

Über den histologischen Charakter dieser Durchtränkung mit kolloider Kohle und ihr langsames Verschwinden, vielleicht durch Einwirkung der Phagocyten, kann ich nichts sagen und mich jetzt nicht damit beschäftigen, da dies den Gegenstand besonderer Untersuchungen bildet, die zurzeit im Pathologischen Institut in Padua im Gange sind.

Im Gegensatz zu meinen Untersuchungen, die dargetan haben, daß die kolloide Kohle, auch wenn intravenös eingespritzt, unschädlich ist, scheint aus der Arbeit von Izar und Patané ihre Giftigkeit bei intravenösen Einspritzungen hervor-

[1]) R. Gurrieri, Il tatuaggio. Enciclopedia Medica Italiana, Serie II 4, 146.

zugehen. Allerdings verwende ich auf chemischem Wege bereitete Kohle und Izar die von Vanzetti auf elektrischem Wege erhaltene (Mellogen). Die verschiedenen Versuchsergebnisse hängen wohl nicht von der kolloiden Kohle an und für sich ab, denn beide besitzen ja dieselben physikalischen Eigenschaften, was Vanzetti teilweise in einer Arbeit[1]) selbst anerkannt hat. Es hat vielmehr den Anschein, daß die verschiedenen Ergebnisse der Tierversuche eher von der Unreinheit des Präparates herrühren. Sicher ist weder meine noch die von Vanzetti eine reine kolloide Kohle. Während aber mein Präparat keine giftigen Verunreinigungen enthält, was durch meine Versuchsergebnisse vollauf erwiesen ist, enthält jene Vanzettis unter den Beimengungen erheblich viel Kohlenoxyd; Izar hat diesen Umstand gar nicht berücksichtigt, obgleich ihn die von ihm beobachtete toxische Wirkung etwas vorsichtiger hätte machen müssen, bevor er die kolloide Kohle dafür verantwortlich machte.

Vanzetti bespricht ausführlich in seinen Arbeiten mit scharfer Kritik und wissenschaftlicher Gründlichkeit die Natur seines Produktes. Er will die Frage entscheiden, ob es eine organische Verbindung oder kolloide Kohle ist, die während der Darstellung große Mengen CO_2 und CO fixiert. Dabei oxydiert sich ein Teil der Kohle, und die Oxydationsprodukte werden angeblich durch Adsorption von der kolloiden Kohle zäh festgehalten. Meiner Überzeugung nach ist sein Präparat eine durch CO_2 und CO verunreinigte kolloide Kohle, wobei zu bemerken ist, daß die Kohlenoxydbeimengung nur durch starke Erhitzung vertrieben wird und dann der Rückstand das Aussehen von Koks hat.

Man sieht aus einer Analyse Vanzettis vom reinsten Produkt, das er darstellen konnte, daß 0,3150 g Substanz:

CO_2	0,0648
CO	0,0357
C	0,1443
Asche	0,0006
H_2O	0,0700

enthielten.

[1]) Atti del R. Istituto Veneto, l. c. S. 1604.

Es waren also 11,33% Kohlenoxyd vorhanden, und das war, wie hervorgehoben werden muß, sein reinstes Präparat.

Demzufolge hat Izar notwendigerweise eine durch nicht weniger als 11,33% Kohlenoxyd verunreinigte kolloide Kohle verwendet. Wenn er daher den Kaninchen von 1 kg Durchschnittsgewicht 100 und 150 mg dieser kolloiden Kohle intravenös einspritzte, so bekamen die Tiere gleichzeitig wenigstens 11,33 bis 16,99 mg Kohlenoxyd, eine hinreichend große Menge, um sie zu töten. Dreser[1]) hat in der Tat gezeigt, daß beim Kaninchen die minimale tödliche Dosis Kohlenoxyd 11,5 mg per Kilogramm Gewicht beträgt, und es ist nicht ausgeschlossen, daß, wenn Dreser seine Untersuchungen statt durch die Lunge auf intravenösem Wege vorgenommen hätte, ein noch geringeres Gewicht von ihm als tödliche Dosis erkannt worden wäre.

Wenn man in Izars Arbeit liest, daß „die intravenöse Einspritzung großer Mengen von Mellogen (kolloidem Kohlenstoff)" giftig und tödlich wirkt, so scheint es logisch, diese Giftigkeit nicht auf Konto der kolloidalen Kohle, sondern des Kohlenoxyds zu setzen, das er in sicher letalen Mengen gleichzeitig einspritzte.

Wenn wir ferner sehen, daß bei Izars Versuchen die kolloide Kohle „starke Dyspnoe" verursacht und die Tiere „unter bulbären Erscheinungen" sterben, so kann die Vermutung, es läge hier eine Kohlenoxydvergiftung vor, nur verstärkt werden.

Nun will ich es nicht unterlassen, die einzige begründete Einwendung, die man dieser Kritik entgegenstellen könnte, zu widerlegen. Man könnte nämlich einwenden, daß in Izars Versuchen das injizierte Kohlenoxyd an der kolloiden Kohle durch Adsorption innig fixiert ist und daher unschädlich sein könnte, wie das bei vielen per os zusammen mit tierischer Kohle eingeführten Giften der Fall ist. Aber ich mache gleich darauf aufmerksam, daß infolge des Gesetzes des Adsorptionsgleichgewichtes das Gleichgewicht jedesmal aufgehoben wird, wenn die adsorbierte Substanz von einem Reagens in einer chemischen Verbindung fixiert wird. In diesem Falle haben wir gerade das Hämoglobin, das das Kohlenoxyd chemisch und fest bindet.

[1]) H. Dreser, Zur Toxikologie des Kohlenoxyds. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 29, 119 bis 134, 1892.

Hierzu möchte ich bemerken, daß ein anderes Gift, das Strychnin[1]), sich mit meiner kolloiden Kohle sehr gut durch Adsorption vereint, so daß es subcutan injiziert unschädlich ist, aber intravenös, obgleich an die kolloide Kohle gebunden, seine Giftigkeit behält.

Außer um das Kohlenoxyd handelt es sich noch um etwas anderes. Izar bereitete die kolloiden Kohlenstofflösungen, indem er das Mellogen (eine gelatinöse Form) mit Natronlauge behandelte und letztere dann durch CO_2 in kohlensaures Natron verwandelte. Nun muß daran erinnert werden, daß kohlensaures Natron auf intravenösem Wege in einer Menge von ungefähr 0,60 g aufs Kilogramm Gewicht tödlich wirkt. Wenn er also bei der Darstellung der kolloiden Lösung nur 2% Natronlauge verwendet und dann von dem endgültigen Präparat 20 ccm eingespritzt hätte, würden mit der Kohle 0,66 g kohlensaures Natron, d. h. eine über dem Durchschnitt liegende tödliche Dosis eingeführt worden sein.

Trotz des Zusatzes von Natronlauge gerieten ihm die kolloiden Kohlenlösungen nicht vollkommen. Um sie stabiler zu machen, fügte er etwas Gelatine hinzu. Bei gelungener Darstellung sind sie ohnehin von großer Beständigkeit, so wie sie Vanzetti und auch ich beschrieben haben. Der Zusatz von Gelatine ist also somit unnötig und kompliziert nur den biologischen Versuch sowie seine Deutung. Von solchen Lösungen darf man alles erwarten, wenn sie intravenös eingespritzt werden, auch ein „Fibringerinnsel im rechten Herzen", wie es tatsächlich bei Izars erstem Versuch mit Kaninchen (Kaninchen Nr. 730) mit einer „nicht stabilisierten" Lösung der Fall war.

Der Unsicherheit der Technik entsprechen die unsicheren Folgerungen. So sagt der Verfasser, daß die Tiere sich „paradox" betrugen und starben, wenn sie hinsichtlich der eingeführten Dosis hätten mit dem Leben davonkommen sollen, und am Leben blieben, wenn sie hätten sterben müssen.

Alles bisher Erwähnte liefert, ganz abgesehen von der kolloiden Kohle, eine mehr als hinreichende Erklärung für die toxischen Erscheinungen und den Tod einiger Tiere bei Izars

[1]) L. Sabbatani, Azione adsorbente ed antidotica del carbone colloidale sulla stricnina. Arch. di Fisiologia, l. c.

Versuchen. Mithin erscheinen seine Folgerungen über die der kolloiden Kohle eigene Giftigkeit durchaus nicht gerechtfertigt. Es ist sogar hervorzuheben, daß trotz der Anwesenheit von Kohlenoxyd, von kohlensaurem Natron, trotz der Unbeständigkeit der schlecht bereiteten Lösung und der ihm zugestoßenen intravaskulären Zufälle von 31 Kaninchen doch 19 am Leben blieben und von diesen 7 nach Mengen von 100 und 150 mg Kohle. Wenn man etwas aus Izars Versuchen schließen könnte, wäre es eher, daß die mit Vanzettis elektrolytischer Methode bereitete, bei Kaninchen intravenös eingeführte kolloide Kohle an und für sich nicht giftig ist.

Schlußfolgerungen.

Meine Versuche beweisen, daß auf chemischem Wege dargestellte kolloide Kohle nicht giftig ist. Eine aufmerksame Prüfung von Izars Versuchen scheint zu bestätigen, daß auch die nach Vanzetti auf elektrischem Wege erhaltene an und für sich und unbeeinflußt von der Verunreinigung durch Kohlenoxyd nicht giftig ist.

Meine Kohle ruft weder abschätzbare lokale noch allgemeine Störungen hervor, sei es durch subcutane oder tracheale oder intravenöse Einspritzungen.

Auf dem Lungenwege und subcutan wird sie nur äußerst langsam resorbiert. Sie bleibt sehr lange in situ haften, wobei die Lunge analog wie bei der Anthracosis pulmonum gefärbt wird und unter der Haut eine tiefgehende Tätowierung zurückbleibt. Ein Milligramm war nach mehr als 2 Monaten noch nicht gänzlich an der subcutanen Injektionsstelle verschwunden.

Auch wenn die Kohle direkt ins Blut eingespritzt wird, geht sie nur schwer aus dem Kreislauf in die Organe über; sie wird von den Endothelzellen, hauptsächlich von denjenigen der Lunge und auch von denen anderer Organe fixiert.

Hierdurch wird es verständlich, daß sie, weil kein direkter Kontakt mit den histologischen Elementen der Organe erfolgt, keinerlei abschätzbare Funktionsstörung verursacht und auch bei intravenöser Injektion nur eine sekundäre Wirkung und manchmal lokale Schädigung des kreisenden Blutes und seiner Blutgefäße hervorbringen kann. Aber auch den mit der Kohle in Berührung kommenden histologischen Elementen, von denen

sie festgehalten wird (Lungenepithel, Gefäßendothel, fixe Bindegewebszellen und Wanderzellen) bringt sie sicher keinen schweren Schaden, wie aus der mikroskopischen Untersuchung hervorgeht.

Wie ich schon beim kolloiden Schwefel zeigen konnte, sehen wir hier bei der kolloiden Kohle in analoger Weise, daß beim Übergang aus der festen Phase in die höchst disperse Phase, wobei die wesentlichen chemischen Eigenschaften der Materie der Hauptsache nach dieselben bleiben, auch die biologischen Eigenschaften beibehalten werden. Bei der Kohle sind sie unverändert, beim Schwefel nur in ihrer Intensität modifiziert.

Haben wir das gröbste vegetabilische oder tierische Kohlenpulver[1]), oder das feinste wie den Lampenruß vor uns, die stabilen Kohlensuspensionen, die Tusche[2]) bis zu wirklichen kolloiden Kohlenlösungen, immer finden wir uns ungiftigen Formen gegenüber, die man sogar als ganz inaktiv bezeichnen kann, wenn man von einigen mechanischen Reizerscheinungen absieht.

---

[1]) J. Almkvist, Weitere Untersuchungen über die Pathogenese der mercuriellen Colitis und Stomatitis. Dermatolog. Zeitschr. **19**, 1005 1912. — Er fand, daß Holzkohlenpulver bei intravenöser Einspritzung ungiftig ist und daß die Kohlenkörnchen nur an der Stelle, wo sie haften bleiben, eine Zellwucherung hervorrufen.

[2]) H. Ribbert (Kreislaufstudien, Virchows Archiv **213**, 17 bis 22, 1913) machte intravenöse Einspritzungen mit Tusche.

Beitrag zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitsbildern.

Von

Emil Medak.

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 8. Januar 1914.)

Die Untersuchungen von Faust und Tallquist[1]), die aus Botriocephalusleibern ein Hämolysin darstellten, das sie als mit Ölsäure identisch fanden, machten es wahrscheinlich, daß die Botriocephalusanämie auf Ölsäurewirkung zurückzuführen sei. Die Schlüsse, zu denen sie kamen, legten den Gedanken nahe, daß es sich bei hämolytischen Anämien des Menschen ebenfalls um Hämolysenwirkung handeln könnte, hervorgerufen durch ein im Blute kreisendes Gift — ob enterogenen oder anderen Ursprungs, bleibe dahingestellt. Wir dachten dabei an ungesättigte Fettsäuren, ebenfalls vom Typus der Ölsäure.

Die vorliegenden Untersuchungen unternahmen wir zur Entscheidung der Frage: Kommen bei hämolytischen Krankheitsbildern ungesättigte Fettsäuren im Blute in vermehrter Zahl vor? Läuft die letztere der Schwere des Krankheitsbildes parallel und läßt sich nach einer erfolgreichen Therapie — es wurde hier in erster Linie an die Splenektomie gedacht — ein Absinken der Fettsäurezahl feststellen?

Wir dehnten weiterhin unsere Untersuchungen auch auf die Milz aus, wobei wir von der Vorstellung ausgingen, daß es vielleicht die Milz ist, die pathologischerweise solche hämolytisch wirkenden Fettsäuren in vermehrter Zahl an die Blutbahn abgibt.

---

[1]) Faust und Tallquist, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, 375.

Als Maß für die Fettsäuren bedienten wir uns nach dem Vorgehen von Joannovics und Pick[1]) der Jodzahl. Diese ist ein Maß für die Anzahl der Doppelbindungen, die wiederum der hämolytischen Kraft der Fettsäuren parallel geht.

Da Cholesterin die Hämolyse roter Blutkörperchen hemmt, mußte mit der Möglichkeit gerechnet werden, ob nicht das Vorhandensein ungesättigter Fettsäuren neben den an das Cholesterin gebundenen gestattet, Schlüsse zu ziehen, die für die Auffassung der pathologischen Vorgänge von Bedeutung wären. Es wurde deshalb freies und an Ester gebundenes Cholesterin quantitativ bestimmt.

Wir bedienten uns bei unseren Untersuchungen auf freies und an Ester gebundenes Cholesterin der Digitoninfällungsmethode nach Windaus[2]). Es wurden 100 ccm durch Venae punctio entnommenen Blutes defibriniert und mit 1000 ccm 96%igem Alkohol versetzt.

Auf diese Weise wurden die Eiweißkörper quantitativ gefällt. Ein Teil der Blutfette ging hierbei in den Alkohol über. Der gesamte Niederschlag wurde vom Alkohol abfiltriert und getrocknet, das Filtrat eingedampft. Der auf dem Filter verbliebene, getrocknete Niederschlag und der Abdampfrückstand wurden im Soxhletapparate mit Petroläther (Kahlbaum) durch 72 Stunden extrahiert. Der Petroläther wurde abgedampft, der auf Gewichtskonstanz gebrachte Rückstand ergab die Menge des in 100 ccm Blut enthaltenen Gesamtfettes. Der Rückstand wurde nun mit heißem 96%igen Alkohol extrahiert, der Extrakt auf ungefähr 50 ccm eingeengt und mit heißer Digitoninlösung [Digitonini cryst. (Merck) 1,0: Alkohol 96% 100,0] das Cholesterin ausgefällt, der Niederschlag auf einen vorher gewogenen, mit Asbestwolle beschickten Goochtiegel gebracht, getrocknet und gewogen. Die erhaltene Zahl, durch 4 dividiert, ergab die Menge freien Cholesterins. Nun wurde das beim Abfiltrieren des Digitoncholesterids erhaltene alkoholische Filtrat mit dem auf dem Goochtiegel verbliebenen Niederschlag vereinigt und mit Petroläther extrahiert, der Extrakt eingedampft, der Rückstand in 96%igem Alkohol gelöst und mit Natrium-

[1]) Joannovics und Pick, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 185.

[2]) Windaus, Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 110.

äthylat verseift. Auf diese Weise wurde das an Ester gebundene Cholesterin frei. Nach der Verseifung wurde filtriert, das Filtrat abermals mit Petroläther mehrmals extrahiert, der Extrakt eingedampft, in heißem 96%igen Alkohol gelöst und mit heißer 1%iger alkoholischer Digitoninlösung gefällt, der Niederschlag auf einen vorher gewogenen Goochtiegel gebracht, getrocknet und gewogen. Die erhaltene Zahl, durch 4 dividiert, ergab die Menge an Ester gebundenen Cholesterins. Das Filtrat wurde zur Bestimmung der Hüblschen Jodzahl verwendet.

Da nur Fette mit ungesättigten Fettsäuren Jod binden[1]), so ist die Jodzahl wohl ein Anhaltspunkt zur Beurteilung ihrer Menge. King[2]) bestimmte die Jodzahl in folgender Weise: Das Filtrat, das beim Abfiltrieren von dem an Ester gebundenen Cholesterin erhalten wurde, wurde eingedampft, in heißem Chloroform gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt. 10 ccm davon wurden mit 25 ccm der Hüblschen Jodlösung versetzt und 6 Stunden im Dunkeln stehen gelassen; hierauf wurden 25 ccm 10%ige Jodkaliumlösung und 300 ccm Wasser hinzugefügt und gegen eine $^1/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung titriert, wobei eine 1%ige Stärkelösung als Indicator diente. Um den Titer der Jodlösung zu ermitteln, wurde stets gleichzeitig eine Kontrolle, jedoch ohne Fettzusatz, aufgestellt. Die Jodzahl erhielt King aus einem Bruche, in dessen Zähler die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Natriumthiosulfatlösung, multipliziert mit dem Titer der letzteren, in dessen Nenner eine Zahl stand, die sich aus der Differenz zwischen Gesamtfett und freiem Cholesterin + an Ester gebundenem Cholesterin ergab. Stets wurden Cholesterin, Cholesterinester und Jodzahl auf 1000 ccm Blut berechnet.

Da bei King die Jodzahlbestimmung nur in jenen Fettanteilen erfolgte, die in Chloroform löslich sind, so gestaltet sich das Verhältnis zwischen Fettzahlen und Jodmenge zu gering. Deshalb gingen wir bei der Bestimmung der Jodzahl anders vor. Dem Filtrat, das wir nach Ausfällung des an Ester gebundenen Cholesterins erhielten, wurde verdünnte Salz-

[1]) Hoppe-Seyler, Handb. d. phys. u. pathol.-chem. Analyse. VIII. Aufl. 1909, S. 102ff.

[2]) King, Zur Pathologie der Milz. Im Erscheinen.

säure bis zur schwach sauren Reaktion zugefügt; hierauf wurde das Filtrat eingedampft, in Chloroform gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt. 50 ccm wurden eingedampft, der Rückstand gewogen, 10 ccm zur Titration verwendet. Der Zähler des Bruches, der die Jodzahl ergab, wurde also von der Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter Natriumthiosulfatlösung, multipliziert mit dem Titer der letzteren, der Nenner von dem Gewichte des auf 100 ccm berechneten Chloroformrückstandes gebildet. Unsere Jodzahlen sind infolgedessen größer als die Kings.

Bevor wir auf unsere Resultate eingehen, wollen wir die Ergebnisse der Untersuchungen Kings rekapitulieren. Sie waren ja der Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen und ein Teil unserer Analysen bildet bloß eine Fortsetzung der Kingschen Arbeit.

King fand bei seinen Versuchen an Hunden, daß regelmäßig nach Splenektomie das Gesamtfett und die Cholesterinmenge im Blute ansteigen, während die Jodzahl bedeutend absinkt. Die Zahl des an Ester gebundenen Cholesterins zeigt in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nach Splenektomie ein Absinken. Absinken der Jodzahl zeigt nur das Serum, in den Blutkörperchen ändert sie sich nicht. Während aber freies und an Ester gebundenes Cholesterin im Serum nach der Splenektomie bedeutend erhöhte Werte ergeben, sehen wir bei den Blutkörperchen das Gegenteil — die Zahlen für freies und an Ester gebundenes Cholesterin sind stark gesunken. Bei pankreas- und milzexstirpierten Tieren fehlt im Blute die Jodzahl. Toluylendiaminvergiftung ergibt hochgradige Cholesterinämie. Werden mit Toluylendiamin vergiftete Tiere splenektomiert, so zeigt sich ein Ansteigen des Cholesterinwertes auf das Doppelte. Auch die Jodzahl ist bei Toluylendiaminvergiftung erhöht, Splenektomie setzt sie nur um ein geringes herab. Durch Kalium-chloricum-Vergiftung erzielte Methämoglobinämie steigert die Cholesterinwerte nur unwesentlich, die Jodzahl ist niedrig.

Aus der großen Reihe der Untersuchungen, die King an Patienten anstellte, geht folgendes hervor:

Fälle ausgesprochener Anaemia perniciosa haben hohe Jodzahlen. Die zwei letal ausgegangenen Fälle zeigen im Ver-

hältnis zum dritten (Pat. wurde splenektomiert und hat sich glänzend erholt[1]) hohe Cholesterinwerte, während die Werte des gebundenen Cholesterins bei dem zweiten und dritten Falle sehr niedrig sind. Fälle von Hämochromatose ergeben hohe Cholesterinwerte, niedrige Jodzahlen. Aus der Reihe der Fälle von Cirrhosis hepatis möchten wir nur einen als bemerkenswert herausgreifen. Der Fall war als Ca? vesicae felleae, progediens ad portam hepatis angeführt und starb im Coma cholaemicum. Die Gesamtfettmenge sank im Koma auf $^1/_3$ der bei Aufnahme der Pat. erhobenen Zahl, ebenso Cholesterin und Cholesterinester, die Jodzahl stieg auf das 3fache. Die Obduktion ergab Cirrhosis hepatis mit Stein im Ductus choledochus. Von den übrigen Cirrhosefällen erwähnen wir, daß in einem Falle, dessen morphologisches Blutbild an Anaemia perniciosa denken ließ (die Obduktion ergab Cirrhose bei schwerer Kachexie) trotz der Kachexie die Jodzahl niedrig war. Die restlichen Cirrhosefälle (eine atrophische — eine bei Tbc. peritonei mit Hämatoporphyrinurie) zeigten hohe Jodzahlen bei im übrigen niedrigen Gesamtfett-, Cholesterin- und Cholesterinesterwerten. Ebenso wie bei den bisher besprochenen kann man auch bei den Ikterusfällen sagen, daß die Höhe der Jodzahl wohl ein Indicator für die Schwere des Krankheitsbildes sein kann. Interessant ist der Befund bei Diabetes mellitus. Vier Fälle mit Lipämie zeigten niedrige Jodzahlen, ein Fall, der im Koma ohne Lipämie starb, hatte eine hohe Jodzahl. Bei den zwei Carcinomfällen Kings finden wir während der Kachexie ein Absinken der Werte für freies und gebundenes Cholesterin, während die Jodzahl steigt. Bei Morbus maculosus Werlhofii ist die Jodzahl sehr hoch, den höchsten Wert erreichte sie bei Polycythämie. In einem Falle (Icterus catarrhalis) untersuchte King das Blut vor und nach der Splenektomie. Das Resultat ist analog dem bei seinen Tierexperimenten erhaltenen.

Überblicken wir die Versuchsreihe Kings, so können wir seine Resultate vorläufig nicht in ein Schema bringen. Die Gründe, warum in dem einen Falle die Werte freien und an Ester gebundenen Cholesterins hoch sind, die Jodzahl ansteigt, während im andern Falle der Cholesterinwert

[1]) Hans Eppinger, 15. Mai 1913 in d. Gesellsch. f. innere Medizin in Wien: Zur Pathologie der Milzfunktion.

ansteigt, Cholesterinester und Jodzahl absinken, sind vorläufig unklar.

Wir gehen nunmehr zur Besprechung unserer Untersuchungen über. Bevor wir freies und gebundenes Cholesterin bestimmten, nahmen wir die Ermittelung der Jodzahl im Gesamtfett vor. Wir nennen diese Zahl „Jodzahl I", als „Jodzahl II" bezeichnen wir die im Filtrat nach Fällung des an Ester gebundenen Cholesterins erhaltene.

Unsere Untersuchungen an Patienten zerfallen in zwei Gruppen, in der einen findet sich die Reihe Kings fortgesetzt, in der andern stehen die Fälle, an denen Eppinger die Milz exstirpieren ließ[1]). Die Jodzahlen Kings dürfen selbstverständlich nur unter Berücksichtigung der verschiedenen Wege, auf denen wir sie erreichten, mit den unseren verglichen werden.

Tabelle I.

Krankheit	Gesamtfett in 1000 ccm Blut	Freies Cholesterin in 1000 ccm Blut	Gebund. Cholesterin in 1000 ccm Blut	Jodzahl I	Jodzahl II
Icterus catarrhalis	6,130	0,8377	0,4150	383,188	108,42
Icterus gravis (mech.)	9,856	1,3900	0,4917	473,43	258,83
Ikterus (bei der Aufnahme)	10,982	1,8200	0,8856	578,09	219,46
do., nach Schwund des Ikterus	8,330	1,2600	0,7190	434,41	263,79
Perniziöse Anämie	5,936	0,7537	0,6560	524,05	195,83
Anämie bei Tbc.	4,649	0,6887	0,3234	396,01	65,72
Kardiale Polycythämie	6,005	1,0065	0,3310	412,31	169,08
Polycythämie	7,470	1,0960	0,4640	521,44	389,29
Hypertrophische Cirrhose	4,958	0,4855	0,6360	435,34	243,85
do.	18,541	2,6040	1,0850	477,65	372,19

Es sind drei Fälle von Ikterus, darunter ein Icterus gravis, ein Icterus catarrhalis. Mit den Jodzahlen, die King bei Ict. catarrh. erhielt, verglichen ist unsere verhältnismäßig gering. Bei Fall III wurde das Blut untersucht, als Patient in

[1]) l. c.

die Klinik kam und als der Ikterus geschwunden war. Gesamtfett, freies und gebundenes Cholesterin waren gesunken, die Jodzahl gestiegen. Worauf das Ansteigen der Jodzahl zurückzuführen ist, ist uns bisher aufzufinden nicht gelungen. Ebenso schwierig ist die Deutung bei Fall V. Jedenfalls drückt sich in dieser Zahl der enorme Unterschied aus, der zwischen primärer und sekundärer Anämie besteht. Die Zahlen, die wir bei unseren Polycythämiefällen erhielten, sind denen Kings analog. Auf das, was wir über die Ätiologie der einzelnen Werte, die wir erhielten, sagen können, kommen wir später noch zurück.

Tabelle II.

Krankheit	Gesamtfett in 1000 ccm Blut	Freies Cholesterin in 1000 ccm Blut	Gebund. Cholesterin in 1000 ccm Blut	Jodzahl I	Jodzahl II
Morb. Banti [1]	6,014	0,9736	0,3480	541,15	428,09
do. [2]	9,175	1,3980	0,7356	461,86	369,10
do. [1]	6,296	0,9510	0,5470	543,41	104,46
do. [2]	7,956	1,0720	0,7140	574,53	172,02
Erworbener hämolytischer Ikterus [1]	5,434	0,4910	0,6330	560,78	325,75
do. [2]	6,476	0,9560	0,3460	627,40	252,05

Tabelle II ist eine Bestätigung der experimentellen Befunde Kings. Ausnahmslos finden wir nach der Splenektomie Gesamtfett- und Cholesterinwerte erhöht. Das Verhalten des an Ester gebundenen Cholesterins ist inkonstant. In der Mehrzahl der Fälle erhielten King und wir ein Ansteigen des gebundenen Cholesterins. Erwähnen möchten wir, daß bei der Untersuchung auf Neutralfett und Lipoide die Patienten auf eine Standarddiät gesetzt werden sollten. Wir fanden gelegentlich eines Kontrollversuchs, daß die Nahrung die Fettwerte stark beeinflußt. Wenn schon bei normalen Fällen — als solche sind Kings Versuche an Hunden anzusehen — das Verhalten der Cholesterinester nach der Splenektomie kein konstantes ist, kann es nicht wundernehmen, daß auch bei unserem klinischen Materiale das gleiche der Fall ist. Wie viele Momente bei der Beurteilung der Zahlen in Erwägung

[1] Vor der Splenektomie.
[2] Nach der Splenektomie.

zu ziehen sind, möge Fall I der Tabelle II demonstrieren. Bei diesem Falle wurde wegen Verdacht auf M. Banti (die histologische Untersuchung ergab vielfach die Zeichen einer Fibroadenie) die Milz exstirpiert. Der Ikterus schwand, da sich jedoch das Allgemeinbefinden des Patienten nicht besserte, wurde er neuerdings einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Hierbei fand sich ein Ca. recti, das vor der Splenektomie trotz vorher erfolgter rektaler Untersuchung nicht diagnostiziert worden war. Ob das Carcinom nach der Splenektomie so rasch gewachsen war — es sprechen verschiedene Gründe dafür, die Milz als ein Organ anzusehen, das möglicherweise hemmend auf das Wachstum von Tumoren einwirkt[1]) —, bleibe dahingestellt. Tatsache ist, daß Carcinome das Verhalten des Blutes in chemischer Hinsicht beeinflussen, wir also bei kritischer Betrachtung der Zahlen bei diesem Falle auch dies mit in Erwägung ziehen müssen. Bei Fall II ist uns für das Ansteigen der Jodzahl einen Grund aufzufinden bisher nicht gelungen; ebenso unklar blieb uns, weshalb bei Fall III die Jodzahl im Gesamtfette nach der Splenektomie stieg, im Filtrate nach Ausfällung der Cholesterinester jedoch sank.

Es erübrigt noch, auf die Resultate, die unsere Untersuchungen an Milzen ergaben, einzugehen. Bezüglich der Methode, der wir uns hierbei bedienten, sei folgendes bemerkt: Die Milz wurde mit Schere und Pinzette vom Fett möglichst befreit, faschiert und $^1/_2$ Stunde in 96%igem Alkohol am Rückflußkühler gekocht. Der Alkohol wurde abfiltriert, das Filtrat eingedampft. Die Milz wurde getrocknet und pulverisiert. Der Abdampfrückstand und die pulverisierte Milz wurden im Soxhletapparate durch 72 Stunden mit Petroläther extrahiert. Im übrigen verfuhren wir wie bei den Blutuntersuchungen.

Aus Tabelle III ist ersichtlich, daß bei mit Toluylendiamin vergifteten Hunden die Werte in Gesamtfett niedrig, jene für Cholesterin dagegen (in Prozenten ausgedrückt) hoch sind. Das Verhalten des an Ester gebundenen Cholesterins ist wieder inkonstant. Die Jodzahlen sind höher als bei normalen Hunden. Es stimmen die Befunde gut zu denen, die King im Blute mit Toluylendiamin vergifteter Hunde erhielt.

[1]) Oser-Přibram, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 12, H. 2, S. 295 bis 302. Daselbst Literatur.

Tabelle III.

		Gesamtfett	Freies Cholesterin in %	Gebundenes Cholesterin in %	Jodzahl I	Jodzahl II
Hund I	normal	1,2360	8,14	2,60	316,23	100,9
„ II	„	0,9781	9,19	1,75	348,89	72,8
„ III	mit Toluylendiamin vergiftet	0,2142	14,33	11,56	720,60	240,0
„ IV	do.	0,4998	15,60	1,40	558,80	114,7

Tabelle IV.

Krankheit	Gesamtfett	Freies Cholesterin in %	Gebundenes Cholesterin in %	Jodzahl I	Jodzahl II
Hypertrophische Cirrhose	8,2696	18,66	1,70	519,26	185,2
Hämolytischer Ikterus	5,7546	15,86	1,75	508,57	144,3

Vorstehende beide Untersuchungen zwingen dazu, die Frage offen zu lassen, ob die Milz der Ort ist, wo die jodbindenden Substanzen, die die hohe Jodzahl im Blute bedingen, an die Blutbahn abgegeben werden. Die zwei Milzen sind von Fall VIII der Tabelle I und von Fall III der Tabelle II. Die Jodzahlen sind geringer als im Blute.

Aus Tabelle V heben wir als bemerkenswert die hohen Werte des gebundenen Cholesterins bei Anaemia perniciosa und bei Ca. ventriculi, ebenso die der Jodzahlen bei denselben Fällen hervor. Wieweit die Zahlen durch die im Kadaver vor sich gehenden Prozesse (die Milzen von Tabelle V sind Leichen entnommen) modifiziert werden, wollen wir nicht entscheiden; den Gedanken, daß die Zahlen aber aus diesem Grunde nicht einwandfrei sein dürften, drängt ein Blick auf Tabelle IV auf. Es lassen sich infolgedessen vorläufig aus diesen Zahlen keine Schlüsse ziehen. Sie mögen aber dennoch hier verzeichnet sein. Denn wenn auch unsere Untersuchungen auf Fette und jodbindende Substanzen in der Milz kein positives Resultat lieferten — mit Ausnahme der Zahlen in Tabelle III —, so sind vielleicht unsere diesbezüglichen Untersuchungen, in größerer Reihe und unter Beachtung der die Zahlen beeinflussenden Kompo-

nenten fortgesetzt, imstande, die Frage, ob in der Milz jodbindende Substanzen in vermehrter Zahl vorhanden sind, und ob die Milz es ist, die jene produziert oder aufspeichert, in positivem oder negativem Sinne zu beantworten.

Tabelle V.

Krankheit	Gesamtfett	Freies Cholesterin in %	Gebundenes Cholesterin in %	Jodzahl I	Jodzahl II
Perniziöse Anämie	1,1215	4,48	10,04	—	93,06
Ca. vesicae felleae progr. ad port. hep.	4,3401	3,66	3,22	—	21,99
Stauungsmilz-Tumor	4,8670	4,40	2,64	—	59,29
do.	5,4910	1,26	2,98	—	40,67
Pneumonia crouposa	6,5260	2,72	1,337	—	50,71
Carcinoma ventriculi	1,3640	10,75	6,76	725,58	133,73
Hypertrophische Cirrhose	2,1320	18,672	2,62	592,51	195,52

Gehen wir nun zu den Ergebnissen zurück, die unsere Blutuntersuchungen lieferten, so wäre folgendes zu sagen:

Tabelle I läßt es als nicht zu gewagt erscheinen, zu behaupten, daß die Blutzusammensetzung hinsichtlich der jodbindenden Substanzen, Cholesterin und Cholesterinester wohl ein Bild über den momentanen Stand des Krankheitsprozesses, soweit er den hämatopoëtischen Apparat tangiert, zu bieten imstande ist.

Was nun die Agenzien betrifft, die Ursache der Anämie resp. der hämolytischen Prozesse sind, so ist es in unseren Untersuchungen bisher nicht gelungen, mehr Licht in diese Verhältnisse zu bringen. Unsere Frage war, ob ungesättigte Fettsäuren in vermehrter Zahl im Blute vorkommen. Tatsache ist, daß wir in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle jodbindende Substanzen vermehrt fanden. Erwähnt sei aber, daß diese Substanzen in vitro nicht hämolysierten. Ob nun die hohe Jodzahl durch Fettsäuren, die von der Milz an die Blutbahn abgegeben werden, oder durch Zerfall roter Blutkörperchen bedingt ist, ist weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Über die biochemische Umwandlung primärer Eiweißspaltprodukte durch Bakterien.

I. Mitteilung.

Das Verhalten von Tyrosin gegen Bact. coli commune. — Eine einfache biochemische Darstellungsmethode von p-Oxyphenyläthylamin.

Von

Takaoki Sasaki.

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Universitätsklinik zu Kyoto.)

(Eingegangen am 9. Januar 1914.)

Das rege Interesse für bakterielle Abbauprodukte, das neuerdings durch pharmakologische und toxikologische Untersuchungen über die Wirkung von Tyramin, Histamin usw.[1]) in der wissenschaftlichen Welt wieder wachgerufen worden ist, veranlaßte mich, mich mit dem Studium des Verhaltens einzelner primärer Eiweißspaltprodukte gegen möglichst einheitliche Bakterien zu beschäftigen. Unsere Kenntnis über den Chemismus von dem Abbau der Aminosäuren bei der Fäulnis verdanken wir wesentlich den unermüdlichen Arbeiten von Baumann, E. und H. Salkowski, Nencki, Brieger, Neuberg, Ellinger und Ackermann usw.[2]). Neubauer hat auch darauf hingewiesen, daß eine strenge Grenze zwischen Fäulnisbakterien und anderen Bakterien überhaupt nicht gezogen werden kann, indem die Aminosäuren in analoger Weise wie durch die Fäulniserreger auch durch andere Bakterien zersetzt werden dürften. Jedoch ist unsere Erfahrung mit ein-

[1]) Die Literatur ist zusammengestellt in Guggenheim, Therap. Monatsh. 26, 795, 1912 und 27, 508, 1913.

[2]) Die Literatur hat O. Neubauer im Biochem. Handlexikon 1911, 360 zusammengefaßt.

zelnen, rein gezüchteten Bakterien bis jetzt noch recht mangelhaft. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß einzelne Bakterien infolge der Verschiedenheit ihrer Eigenschaften die Aminosäuren zu ganz verschiedenen Produkten abbauen.

Die Erkenntnis der sich dabei abspielenden chemischen Vorgänge, resp. der dadurch entstehenden Abbauprodukte ist nicht nur für die chemische Mikrobiologie, sondern auch für die Lehre der Autointoxikation von großer Bedeutung. Schon vor ca. 3 Jahren hielt ich auf die Aufforderung der Gesellschaft für Verdauungskrankheiten in Tokio hin einen zusammenfassenden Vortrag über die Giftbildung im Verdauungskanal[1]) und machte darauf aufmerksam, daß jetzt wohl die Zeit gekommen sei, die Lehre von der intestinalen Autointoxikation einer eingehenden Revision zu unterziehen. Die Entdeckung der verschiedenen Aminosäuren hat die Kenntnis der proteinogenen Amine wesentlich erweitert. Viele Amine anderer Herkunft sind auch dank dem enormen Fortschritte der Biochemie in bezug auf ihre Zusammensetzung klargestellt. Daß die aromatischen Säuren und Oxysäuren im Harn ihre Entstehung gleichfalls der bakteriellen Zersetzung im Verdauungstraktus verdanken, ist eine bekannte, klassische Tatsache. Solche „physiologische Gifte", Säuren und Basen entstehen jederzeit im Verdauungskanal. Die Störung der physiologischen Regulation des Bakterienantagonismus im Darme könnte deshalb zu einer abnormen, einseitigen Überproduktion irgendeines physiologischen Giftes führen. Es ist wohl kaum zu bezweifeln, daß entweder die Insuffizienz der entgiftenden Organe oder ein Übermaß der Produktion von Giftstoffen im Organismus krankhafte Erscheinungen hervorrufen können. Systematische Untersuchungen über den Chemismus der bakteriellen Zersetzung sind deshalb auch von diesem Gesichtspunkte aus sehr wünschenswert. In der Tat hat Toku Iwao[2]) auf meine Veranlassung eine interessante Tatsache gefunden. Er konnte nämlich durch wiederholte Subcutaninjektionen von p-Oxyphenyläthylamin bei Meerschweinchen eine schwere Anämie von perniziösem Charakter hervorrufen, die mit einer auffälligen

[1]) Jap. Zeitschr. f. Verdauungskrankheiten **10**, Nr. 2, 1911.
[2]) Siehe die folgende Mitteilung.

Verminderung, resp. dem Schwund der eosinophilen Zellen einhergeht.

Überlegt man nun, wie die Verhältnisse sich ändern müssen, wenn entgiftende, resp. ausscheidende Organe, wie z. B. die Niere an ihren Funktionen eingebüßt haben, so dürfte es auch nicht uninteressant sein, den Einfluß der physiologischen Gifte auf kranke, resp. experimentell krank gemachte Organismen zu studieren. Einen solchen Wink gibt uns die interessante Arbeit von Obermeyer und Popper[1]), die bei Urämiekranken eine Retention von aromatischen Substanzen im Blute nachwiesen. Diesen Befund wollten sie allerdings mit Recht vorläufig nur als einen Indicator für Urämie deuten. Wir wissen auch nicht, welchen Anteil am sog. Reststickstoff die im Verdauungstraktus bakteriell umgewandelten stickstoffhaltigen Substanzen nehmen.

Die genaue Kenntnis des bakteriellen, sich besonders im Verdauungskanal abspielenden Chemismus könnte z. B. für die Lehre von der Urämie, resp. für die Symptomatologie der Nephritis irgendeinen neuen Beitrag liefern. Wir hoffen also, daß unsere Untersuchung nicht nur etwas für die chemische Mikrobiologie sondern auch für die klinische Pathologie beitragen wird.

Die Untersuchung bot einige Schwierigkeiten. Die durch Bakterienwirkung entstandene, isolierbare Substanz ist manchmal zu klein, als daß man ihre Entstehung auf die zugesetzte Substanz beziehen dürfte. Um diese Schwierigkeit zu umgehen, ist es am besten, solche Substanzen aus der betreffenden Nährlösung auszuschließen, die eventuell das Resultat komplizieren könnten. Aus diesem Grunde verwenden wir eine Nährlösung, die hauptsächlich aus anorganischen Salzen besteht.

Wir konstatierten damit reichliche Entstehung von p-Oxyphenyläthylamin aus Tyrosin durch die Wirkung von Bact. coli commune, während daneben die Bildung aromatischer Oxysäuren so spärlich stattfand, daß diese einer Charakterisierung nicht zugänglich waren.

Früher glaubte man für die Entstehung von p-Oxyphenyläthylamin und sonstigen Aminen unter den Mikroorganismen besonders die Fäulniserreger verantwortlich machen zu müssen.

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 72, 332, 1911.

A. Berthelot und D. M. Bertrand[1]) haben neuerdings auch durch den von ihnen gefundenen Bacillus aminophilus intestinalis, der angeblich zur Gruppe des Bacillus pneumoniae Friedländer gehört, die Bildung dieses Amins aus Tyrosin beobachtet. Anderseits haben wir festgestellt, daß Bac. proteus vulgaris, den wir aus faulendem Rinderpankreas isoliert haben, aus Tyrosin vorwiegend aromatische Oxysäuren bildet, während wir dabei bis jetzt die Bildung des Amins vermißten. Diese entgegengesetzten Ergebnisse bei Coli und Proteus sind sehr bemerkenswert.

Weitere Untersuchungen darüber und Versuche auch mit anderen Aminosäuren und verschiedenen anderen Bakterien sind in unserem Laboratorium im Gange.

Experimenteller Teil.

Nach vielfachen, schlechten Erfahrungen haben wir eine Nährlösung von folgender Zusammensetzung hergestellt, die sich für unseren Zweck am besten bewährt hat:

Natriumchlorid . . .	5,0 g
Monokaliumphosphat	2,0 g
Magnesiumsulfat . .	0,1 g
Ammoniumcarbonat .	1,0 g
Glycerin	20,0 ccm
Wasser	1000,0 ccm

In einen samt seinem Wattepfropfen vorher trocken sterilisierten kurzhalsigen Kolben von 1 l Inhalt trugen wir 800 ccm Nährlösung mit 2,0 g Tyrosin (aus Seide) ein. Das dazu benutzte Tyrosin wurde mit besonderer Sorgfalt umkrystallisiert, indem wir es unter schneller Abkühlung und stetem Umrühren schnell auskrystallisieren ließen, um dadurch möglichst feine Krystalle zu erhalten. Beim Sterilisieren im Kochschen Dampftopf ging das so fein auskrystallisierte Tyrosin vollständig in Lösung. Nach dem Abkühlen bei Zimmertemperatur auf ca. 40° stellten wir den Kolben in einen Brutschrank von 37°. Nachdem der Kolben die Brutschranktemperatur angenommen hatte, wurden 20 Agarkulturen von Bact. coli commune, in derselben sterilen Nährlösung aufgeschwemmt, zugesetzt. Somit blieb das Tyrosin immer in Lösung, ohne sich auszuscheiden.

[1]) Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **154**, 1826, 1912.

Diese Maßregel ist für das Resultat von großer Bedeutung. Wir arbeiteten auf einmal mit 5 Kolben, resp. 10 g Tyrosin. Bact. coli commune wurde jedesmal frisch aus Menschenfaeces isoliert und auf gewöhnlichen, schiefen Agarnährböden in Reagenzgläsern möglichst lückenlos ausgebreitet und 24 Stunden lang kultiviert. Die Bakterien wachsen in diesem Lösungsgemisch sehr gut weiter. Wir ließen das Gemisch 40 Tage lang im Brutschrank stehen. Nachdem wir sodann die Reinheit der Bakterien konstatiert hatten, vereinigten wir 5 Portionen zusammen in einer Porzellanschale und dampften das Gemisch, das jetzt schwach sauer reagierte, unter Zusatz von Alkohol auf dem Wasserbade bis zu einem dicken Sirup ein. Der Sirup wurde mit siedendem Alkohol erschöpfend und wiederholt extrahiert. Den Rückstand lösten wir nach Abdampfen des Alkohols in Wasser auf und machten die Lösung unter Zusatz von Phosphorsäurelösung stark sauer. Die saure Lösung wurde dann 24 Stunden mittels des Kumagawa-Sutoschen Flüssigkeitsextraktors mit Äther extrahiert.

a) Saurer Extrakt.

Der Extraktionsrückstand wurde mit verdünnter Natronlauge vorsichtig bis zu fast neutraler Reaktion neutralisiert und dann unter Zusatz von gesättigter Natriumcarbonatlösung stark alkalisch gemacht. Die alkalisch reagierende Lösung wurde von neuem 24 Stunden lang mit Äther extrahiert. Zu unserer angenehmen Überraschung war schon nach einigen Stunden der Vorlagekolben des Extraktionsapparates voll schöner silberglänzender Krystalle. Der Vorlagekolben wurde gewechselt und die Extraktion fortgesetzt.

b) Alkalischer Extrakt.

Darstellung des sauren Extraktes.

Die ätherische Lösung wurde mit 10%iger Natriumcarbonatlösung in einem Scheidetrichter durchgeschüttelt und die carbonatalkalische Lösung von neuem 12 Stunden lang mit Äther extrahiert. In jenem Ätherrest und in dieser Ätherlösung erwarteten wir Oxyphenyläthylalkohol[1]). Die beiden Portionen wurden vereinigt und nach dem Trocknen mit Na-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 139, 1911.

triumsulfat eingedampft. Aus der quantitativ geringen, harzähnlichen Restsubstanz konnten wir durch Benzoylierung nach Schotten-Baumann nichts herausbekommen.

Die carbonatalkalische Lösung wurde unter Zusatz von Phosphorsäurelösung von neuem stark sauer gemacht und 12 Stunden mit Äther extrahiert. Der nach dem Trocknen mit Natriumsulfat abgedampfte, bräunlich gefärbte Rückstand wurde in Wasser aufgelöst und mit Tierkohle behandelt. Nach dem Erkalten besaß die Lösung keine erkennbare Drehung, während sie mit Millons Reagens deutlich rote Färbung annahm. Die wässerige Lösung wurde auf dem Wasserbade eingeengt und dann im Vakuum über konz. Schwefelsäure stehen gelassen. Aus der schwach bräunlichgelben, sirupösen Masse schieden sich nur wenige nadelförmige Krystalle nach einigen Tagen aus, die, auf Ton von der Mutterlauge getrennt, keinen scharfen Schmelzpunkt hatten.

Darstellung des basischen Extraktes.

Die aus dem Äther auskrystallisierte Substanz wurde abfiltriert, mit Äther gewaschen und über Chlorcalcium getrocknet. Ausbeute 5,59 g. F. 161° (unkorr.).

Nach dem Abdampfen der ätherischen Mutterlauge haben wir den Rückstand in verdünnter Salzsäure aufgelöst, mit Tierkohle entfärbt und auf dem Wasserbade eingeengt. So konnten wir davon noch ein salzsaures Salz vom Schmelzpunkt 268 bis 269° (unkorr.) gewinnen. Ausbeute 0,47 g.

Zur Analyse wurde das freie Amin noch einmal aus Alkohol umkrystallisiert und dann zuerst über Chlorcalcium, dann über Phosphorsäureanhydrid im Vakuum getrocknet:

Subst. 0,1940: CO_2 0,4958 H_2O 0,1416
„ 0,1618: $^n/_{10}$-NH_3 11,6

$C_8H_{11}ON$	Ber.	Gef.
C	70,01	69,70
H	8,08	8,18
N	10,24	10,03

Das salzsaure Salz wurde außerdem als Chloroplatinat identifiziert:

Subst. 0,1566 Pt 0,0444

$(C_8H_{11}ON)_2.H_2PtCl_6$	Ber.	Gef.
Pt	28,48	28,35

Es unterliegt keinem Zweifel mehr, daß die basische Substanz p-Oxyphenyläthylamin ist. Die Ausbeute war beträchtlich; 5,59 g und 0,37 g (0,47 g salzsaures Amin). Also aus 10 g Tyrosin wurden 5,96 g p-Oxyphenylamin gebildet gleich 78,7% der Theorie.

Wegen der einfachen Operation wandten wir dieselbe Methode noch 2 mal zwecks Darstellung von p-Oxyphenyläthylamin an. Selbstverständlich machten wir zur Ätherextraktion die wässerige Lösung des Alkoholextraktes, ohne vorher sauer zu extrahieren, direkt mit gesättigter Natriumcarbonatlösung sehr alkalisch. Mit der Ausbeute waren wir immer sehr zufrieden.

Beiträge zur Kenntnis der intestinalen Autointoxikation.

I. Mitteilung.

Über den Einfluß von p-Oxyphenyläthylamin auf das Meerschweinchenblut.

Von

Toku Iwao.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik von Prof. T. Sasaki, Kyoto.)

(Eingegangen am 9. Januar 1914.)

Seit den Briegerschen Forschungen ist es eine schon bekannte Tatsache, daß verschiedene giftige Amine durch die Einwirkung von Fäulnisbakterien aus Eiweiß und sonstigen Substanzen entstehen. Dem enormen Fortschritte der Eiweißchemie in den letzten Dezennien verdanken wir nicht nur Klarheit über die Quelle dieser Amine, sondern auch die Entdeckung verschiedener interessanter neuer Amine.

Die Entdeckung des p-Oxyphenyläthylamins liegt zwar ziemlich weit zurück, aber sein Vorkommen in verschiedenen Substanzen ist erst in neuerer Zeit bekannt geworden.

Emmerson[1]) fand diese Base bei der Autolyse von Pankreas, Barger[2]) und Walpole trafen sie bei der Fäulnis des Pferdefleisches an. Winterstein und Küng[3]) isolierten sie aus Emmentaler Käse, Barger und Dale[4]) aus Mutterkorn und Matao Jugawa[5]) aus japanischer Soja. Dale und Dixon[6]) und andere Forscher haben bei dieser Substanz eine den Blutdruck steigernde und den Uterus kontrahierende Wirkung konstatiert. Im Anschluß daran empfiehlt Heimann[7]) die Base als vollständigen Ersatz des Secale cornutum.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**, 501, 1902.

[2]) Journ. of Physiol. **38**, 343 bis 352, 1909.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **59**, 138, 1909.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. **61**, 113, 1909.

[5]) Journ. of the Tokyo chemical society. June 1913.

[6]) Journ. of Physiol **39**, 25, 1909.

[7]) Münch. med. Wochenschr. **59**, 1370, 1912.

Das Vorkommen dieser Base bei der Fäulnis des Fleisches legte uns den Gedanken nahe, daß sie vielleicht normalerweise bei der Eiweißfäulnis im Darme entstehen könnte. Berthelot und Bertrand[1]) haben den Bacillus aminophilis intestinalis, der der Gruppe des Friedländerschen Pneumobacillus angehören soll, aus dem menschlichen Darminhalt isoliert. Dieser Bacillus bildet aus Tyrosin p-Oxyphenyläthylamin. Nach dem Untersuchungsergebnis von Prof. Takaoki Sasaki, der mir diese Aufgabe übertrug, entsteht p-Oxyphenyläthylamin unter gewissen Umständen durch die Einwirkung von lebenden Colibacillen aus Tyrosin, und zwar in beträchtlichen Mengen. Die Tatsache, daß Dale und Dixon[2]) bei Verabfolgung der Base an Ratten sofortige Blutdrucksteigerung bemerkten, beweist die schnelle Resorption dieser Base aus dem Verdauungskanal. Es fehlt m. E. bis heute an Angaben, ob die Base vom Standpunkte der intestinalen Autointoxikation untersucht wurde.

Wie eine riesenhafte Literatur beweist, ist man über die Pathogenese der kryptogenetischen perniziösen Anämie noch nicht zu einem klaren Einblick gekommen.

Grawitz[3]) und andere Forscher nehmen als Ursache enterogene Gifte, Produkte von Fäulnisvorgängen im Magendarmkanal, auf Grund klinischer Beobachtungen und anatomischer Befunde an. Bis heute ist aber in direkter, exakter Weise kein toxinartiger oder chemischer Körper nachgewiesen, der in genügender Konzentration in jedem menschlichen Organismus solche Krankheitserscheinungen hervorrufen kann, so daß obige Annahme immer nur den Wert einer Hypothese hat. Der Grawitzschen Annahme steht Bloch[4]) auf Grund der Resultate seiner klinischen Analysen und seiner experimentellen Untersuchungen ablehnend gegenüber, indem er bei Kranken an perniziöser Anämie die Ätherschwefelsäure, flüchtigen Fettsäuren und Ptomaine des Harns quantitativ bestimmte und keine bemerkbare Vermehrung beobachten konnte. Natürlich sind diese negativen Resultate nicht absolut beweisend. Vergebens suchte Strauß[5]) einen Zusammenhang zwischen Apepsia gastrica und perniziöser Anämie zu finden. Er hielt es trotzdem nicht für ausgeschlossen, daß gewisse Beziehungen zwischen dieser Krankheit und bestimmten krankhaften Zuständen am Verdauungskanal existieren. Aus alle dem geht eins hervor, daß man mit den bisherigen Untersuchungs-

[1]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **154**, 1643, 1912.
[2]) Ibidem.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. **1898**, Nr. 32 bis 33, S. 704 und 730.
[4]) Arch. f. klin. Med. **77**, 277, 1903.
[5]) Zeitschr. f. klin. Med. **41**, 40, 1900.

methoden über Entstehung der kryptogenetischen perniziösen Anämie noch zu keinem einwandfreien Schluß gekommen ist. F. Berger und I. Tsuchiya[1]) haben gefunden, daß Extrakte der Magen- und Darmschleimhaut bei Kranken mit Biermerscher Anämie viel stärker hämolytisch wirken als Extrakte normaler Schleimhäute, was jedoch neuerdings von Ewald und Friedberger[2]) nicht bestätigt wurde.

Durch Adrenalinreinjektion beobachteten im letzten Jahre Schlecht und Schwenker[3]) beim Hunde das Absinken der Erythrocytenzahl, des Hb-Gehaltes und der eosinophilen Zellen. Zwischen dem Adrenalin und dem p-Oxyphenyläthylamin bestehen bekanntlich gewisse Ähnlichkeiten in bezug auf chemische Konstitution, wie in biologischer Hinsicht. Diese Ähnlichkeiten ermutigten uns, unseren Versuch zuerst mit p-Oxyphenyläthylamin zu beginnen. Die dabei aufgetretenen Veränderungen des Blutes und der blutbildenden Organe sind sehr ähnlich dem Bilde der perniziösen Anämie. Jedoch wollen wir daraus noch nicht etwa schließen, daß wir mit unseren Ergebnissen die Pathologie und besonders die Pathogenese der Biermerschen Anämie definitiv erklären könnten. Wir hoffen nur, mit unserem Experimente etwas zur Klärung der so schwierigen Blutpathologie beizutragen. Die Zukunft wird weiteres bringen.

Bemerkenswert ist, daß p-Oxyphenyläthylamin als salzsaures Salz nicht hämolytisch wirkt. Dafür erlauben wir uns, den Aufsatz von Morawitz zu zitieren, der unseren Standpunkt ganz vortrefflich wiedergibt:

„Die Hämolyse kann ganz gut so langsam verlaufen, daß man sie im groben Reagensglasversuch nicht sichtbar machen kann. Oder es handelt sich überhaupt nicht um eine Hämolyse im engeren Sinne, sondern um eine Schädigung der Erythrocyten, die dann einem schnellen Untergang in den blutzerstörenden Organen, besonders in Leber und Milz, verfallen".

Experimenteller Teil.

Versuchstiere: Gesundes und normales Blutbild besitzende Meerschweinchen wurden die ganze Versuchsdauer hindurch mit der ausgepreßten Masse weißer Bohnen gefüttert, die in Japan Okara genannt und im allgemeinen zur Fütterung kleiner Laboratoriumstiere verwendet wird.

---

[1]) Arch. f. klin. Med. **96**, 252, 1909.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 27 und 30, S. 1293 und 1449.

[3]) Zeitschr. f. klin. Med. **76**, 77, 1912.

Injektionsmittel: Chemisch reines salzsaures p-Oxyphenyläthylamin, das nach Ehrlich[1]) durch Sublimieren des reinen Tyrosins aus Seide im Vakuum bei ca. 27° dargestellt wurde.

Beim 1. Versuche wurde eine 0,5 bis 0,6%ige wässerige Lösung und später eine 1%ige angewandt. Die frische, sterilisierte Lösung wurde täglich einmal am Bauche der Meerschweinchen subcutan injiziert.

Das Blut wurde beim 1. Versuche einmal 1 Stunde nach der Injektion und später immer nach 3 Stunden durch den Ohrlappen entnommen. Um das Tier während der Blutentnahme ruhig zu halten und so das Resultat durch die infolge der Anstrengung des Tieres auftretenden Eventualitäten nicht zu trüben, konstruierte ich einen Sack aus Gaze, in den man das Tier bequem hineinschieben und an 4 Stellen (am Kopf- und Schwanzende und an 2 Stellen des Thorax) sanft umschnüren kann. Nur die der Injektionsstelle und den beiden Ohrlappen entsprechenden Stellen sind offen gelassen. So verhält sich das Tier ganz ruhig.

Verwendet wurden der Thoma-Zeißsche Apparat zur Blutkörperchenzählung und das Sahlische Hämometer zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes. Bei jedem Tiere wurden ein und dieselben Apparate verwendet.

Tabelle I.

Datum	Eosinophile %	Neutrophile %	Mastzellen %	Lymphocyten kl.	Lymphocyten gr.	Mononucleäre %	Übergangszahl %	Körpergewicht g	Dose
24. V.	14,3	39,5	0,9	34,3	7,0	2,3	1,5	355	Vor Injektion.
24.	12,4	42,5	2,0	31,2	6,3	1,5	4,0	—	0,00175
25.	2,0	35,2	6,7	38,5	14,5	2,0	2,3	—	0,00175
26.	4,4	38,4	2,4	42,6	6,2	1,5	4,4	—	0,003
27.	3,1	39,1	1,0	46,6	4,1	2,0	3,1	—	0,003
28.	0,2	44,8	1,5	42,3	5,0	2,5	3,8	—	0,003
29.	1,3	29,6	0,4	53,7	5,7	4,2	4,5	—	0,003
30.	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003
31.	0,4	11,0	0,8	66,7	11,4	3,5	5,3	—	0,003
1. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003
2.	1,2	26,8	0,8	63,7	3,1	1,5	2,3	348	0,003
3.	—	—	—	—	—	—	—	—	0,003
4.	0	42,1	0,8	44,2	4,5	4,3	3,8	—	0,003
5.	0,3	32,6	0,8	57,0	4,6	2,5	1,6	—	0,003
6.	0	33,0	1,7	31,9	22,8	7,9	1,7	—	0,003
7.	0,8	53,6	0,8	26,0	7,2	2,1	9,0	334	0,003
8.	0	41,8	0,9	44,9	1,4	4,6	4,4	—	0,003

Wie aus der Tabelle I ersichtlich, ergaben alle 9 Tiere ein übereinstimmendes Resultat in bezug auf auffallende Verminderung der Prozentzahl der eosinophilen Zellen.

Im 2. Versuche verwandte ich eine noch größere Dosis und verfolgte dabei den Gesamtblutbefund.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 1006, 1912.

Tabelle II.

Meerschweinchen Nr. 1, ♂.

Datum	Frisches Blutbild	Erythrocyten	Hb-Gehalt	Hb-Index	Leukocyten	Eosinophile abs.	Eosinophile %	Neutrophile %	Mastzellen %	Lymphocyten kl.	Lymphocyten gr.	Mononucleäre %	Übergangszahl %	Körpergewicht g	Dose
9. VII.		7250000	82	1,0	10625	3219	30,3	42,7	0,8	8,4	8,9	3,9	2,8	430	Vor Injektion
9.		5250000	80	1,3	15781	3977	25,2	48,3	0	10,5	3,8	8,2	2,8	—	0,0045
9.		5287500	75	1,2	8437	2083	24,0	44,0	0	10,1	6,6	8,6	4,8	—	—
9.		5937500	70	1,0	12500	1862	14,9	61,5	0,5	10,4	4,3	4,6	3,2	—	—
10.		5382400	66	1,0	7812	70	0,9	75,2	0,45	9,0	7,2	4,5	1,8	—	0,0045
11.	Auftreten d. leicht. Poikilocytose und Anisocytose.	6137500	65	0,9	11734	1548	13,2	48,2	1,8	18,2	9,5	6,8	2,6	—	0,0045
12.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,008
13.		4881500	62	1,1	10312	2454	23,8	30,7	1,4	30,6	6,7	5,4	1,4	—	0,008
14.		4600000	60	1,1	8437	961	11,4	34,3	2,3	32,5	10,9	6,5	1,0	420	0,008
15.		4862500	60	1,08	7083	1281	18,1	41,5	1,9	25,7	4,6	7,3	1,3	410	0,008
16.		4637500	55	1,05	4844	445	9,2	42,0	1,2	18,0	18,0	6,3	3,1	—	0,008
27. VII.		6356250	78	1,08	9166	1199	13,0	34,4	1,8	25,2	14,4	6,2	1,5	420	

Versuch 2.

Meerschweinchen Nr. 1 (Tabelle II).

Verhalten des Blutes.

Mit dem Fortschreiten der Injektionen wurde die Farbe des Blutes allmählich blasser. Die Zahl der roten Blutzellen verminderte sich ziemlich stark. Der Hb-Gehalt des Blutes nahm ziemlich hochgradig ab.

Als morphologische Veränderungen der roten Blutzellen kamen schon am 6. Tage leichte Anisocytose und Poikilocytose zum Vorschein, wobei viele polychromatophile Makrocyten und auch basophil punktierte Erythrocyten auftraten. Am 7. Tage erschienen ziemlich reichliche Normoblasten neben Makrocyten. Die Mehrzahl der Normoblasten zeigte polychromatische Färbung des Zelleibes. Megaloblasten wurden nicht gefunden. Der Hb-Gehalt war im ganzen beträchtlich herabgesetzt, aber die einzelnen Zellen waren relativ hämoglobinreich.

Wie die obere Tabelle II veranschaulicht, zeigte auch das Tier wie beim Versuch 1 eine Verminderung der eosinophilen Zellen, sowohl absolut wie prozentualiter. Bemerkenswert ist die Vermehrung der Prozentzahl der Lymphocyten.

Am 16. VII. wurden die Injektionen unterbrochen, am 27. VII. zeigte das Blut ein fast normales rotes Bild. In diesem Stadium war also das Blut noch regenerationsfähig.

Meerschweinchen Nr. 2 (Tabelle III).

Wie aus der Tabelle III ersichtlich ist, zeigte das Tier eine dem Nr. 1 ganz gleiche Veränderung. Unter profuser Darmblutung ging das Tier am neunten Tage zugrunde.

Tabelle III.

Meerschweinchen Nr. 2, ♂.

Datum	Frisches Blutbild	Erythrocyten	Hb-Gehalt	Hb-Index	Leukocyten	Eosinophile abs.	Eosinophile %	Neutrophile %	Mastzellen %	Lymphocyten kl. %	Lymphocyten gr. %	Monocyten %	Übergangszeit %	Körpergewicht g	Dose g
11. VII.		5637500	72	1,00	11562	4356	42,0	26,0	1,0	14,1	6,3	7,2	3,4	620	Vor Injekt.
11.		4658333	74	1,20	15520	3321	21,4	44,9	0,9	19,2	4,6	4,6	3,1	—	0,0065
11.		4900000	77	1,20	10312	2268	22,0	39,4	1,1	16,5	8,7	6,9	3,5	—	—
12.		5412500	68	0,90	9062	1812	20,0	55,2	2,0	7,2	7,1	7,1	1,1	—	0,012
13.		5250000	66	0,90	10781	3007	27,9	31,6	0,6	15,5	13,3	6,5	4,3	—	0,012
14.	Auftreten d. leicht. Poikylocytose u. Anisocytose.	4600000	55	0,93	9062	2084	23,0	42,0	1,4	17,0	7,2	6,2	2,3	600	0,012
15.		4487500	55	0,95	8906	2092	23,5	32,5	1,2	19,1	6,5	5,5	1,5	570	0,012
16.		4012500	67	1,30	9166	2438	26,6	41,0	1,6	13,7	5,7	7,7	2,6	565	0,012
17.		3750000	46	1,03	7031	1349	19,2	41,9	1,6	21,4	7,0	7,0	0,9	550	0,012
18.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	530	0,012
19.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	490	0,008

Sektionsbefund: Auffallende Blutungen an der Unterhaut, der Magen- und Darmschleimhaut, Leber stark vergrößert, bräunlichgelb und etwas derb. Magen stark aufgebläht, mit dünngelblicher, eigenartig stinkender Flüssigkeit (Reaktion schwach alkalisch) gefüllt, Pylorus krampfartig kontrahiert und nicht durchgängig. Der obere Teil des Dünndarms stark aufgebläht, mit zeisiggelber, stinkender und stark alkalisch reagierender Flüssigkeit gefüllt.

Histologischer Befund: Schleimhaut- und Lungenblutung. Kleinzellige Infiltration der Darmschleimhaut. Leber fettig degeneriert, sonst nichts Besonderes.

Zur Kontrolle entnahm ich zwei Meerschweinchen von ungefähr derselben Größe wie die Versuchstiere täglich fast gleiche Blutmengen in ganz derselben Weise. Diese Tiere zeigten überhaupt keine Blutveränderung.

Versuch 3.

Beim Versuch 3 habe ich eine noch etwas größere Dose verwendet und zwischen den Injektionsreihen eine mehrtägige Pause eingeschaltet, wodurch ich ein noch schöneres Blutbild als Regenerationszeichen der blutbildenden Organe zu erhalten hoffte.

Meerschweinchen Nr. 3, ♂.
(Körpergewicht 430 g.)

19. IV. bis 23. IX. 0,0045 g und 24. IX. bis 27. IX. 0,01 g täglich einmal subcutan injiziert. 13 Tage Pause. Dann wurde von neuem täglich einmal je 0,01 g (10. X. bis 13. X.) injiziert.

Meerschweinchen Nr. 4, ♂.
(Körpergewicht 370 g.)

19. IX. bis 23. IX. 0,004 g und 24. IX. bis 27. IX. 0,008 g täglich einmal subcutan injiziert. 13 Tage Pause, worauf von neuem täglich einmal je 0,01 g (10. X. bis 13. X.) injiziert wurde.

Trotz der Unterbrechung der Injektionen (die letzte Injektion am 13. X.) nahm die Anämie bei beiden Tieren progressiv zu, so daß ich endlich ein Tier am 21. X. frühmorgens im Zustande der Agonie antraf. Ein anderes Tier war noch ziemlich munter. Aber sein Blutbefund war noch schlechter als der des sterbend gefundenen Tieres. Der Hb-Gehalt war bis auf die Hälfte des Gehaltes vor der Injektion gesunken. Sein Blutbild: Anisocytose und Poikilocytose ziemlich auffallend. Außer reichlichen Polychromatophilen traten Normoblasten und spärliche Megaloblasten im Blute auf. Gegenüber 300 weißen Zellen wurden 101 Normoblasten und 10,7 Megaloblasten gezählt.

Zwei Kontrolltiere ohne Injektion zeigten kein abnormes Blutbild.

Hervorzuheben ist bei der Injektion der großen Dosen das Vorherrschen der Veränderungen von seiten der roten Blutzellen, während die weißen Blutzellen, abgesehen von der Verminderung ihrer absoluten Zahl, nichts Besonderes aufweisen. Auch die Abnahme der Eosinophilen war nicht auffallend.

Die ausführliche Mitteilung des Versuchs 3 mit näherer Beschreibung des pathologisch-histologischen Befundes, der im wesentlichen in der Umwandlung des Knochenmarks in rotes Mark, starker Hämosiderosis der Milz und der Leber, kleinen Blutungen und sonstigen Veränderungen des Darmes besteht, wird später an anderer Stelle publiziert werden.

Zusammenfassung.

Zwecks Untersuchung des Einflusses der intestinal entstehenden Giftstoffe auf die Blutbeschaffenheit konnte ich durch wiederholte Subcutaninjektionen von p-Oxyphenylamin, das bekanntlich durch Bakterieneinwirkung aus Tyrosin entsteht, beim Meerschweinchen schwere Anämie von perniziösem Charakter hervorrufen.

Die Versuchsresultate lassen sich in folgende Sätze zusammenfassen:

Beim Versuch 1 (täglich fortlaufend einmalige Injektion vom 24. V. bis 8. VI. 0,00175 bis 0,003 g) trat auffällige Verminderung der eosinophilen Leukocyten in den Vordergrund.

Beim Versuch 2 [täglich einmal fortlaufend (bei Nr. 1 9. VII. bis 16. VII. 0,0045 bis 0,008 g) (bei Nr. 2 11. VII bis 19. VII. 0,0065 bis 0,012 g)] wurden auch die roten Blutzellen berücksichtigt.

Die Zahl der roten Blutzellen und der gesamte Hb-Gehalt nahmen stark ab, während einzelne Erythrocyten noch relativ reich an Hämoglobin waren. Ferner traten geringgradige Poikilocytose, Polychromatophilie, Normoblasten und polychromatophile Makrocyten auf. Außer der Verminderung der eosinophilen Leukocyten ist die relative Vermehrung der Lymphocyten hervorzuheben.

Bei Versuch 3 wurde eine noch größere Dose unter Einschaltung von mehrtägigen Pausen eingespritzt. Außer den oben genannten Veränderungen waren die reichlichen basophil punktierten Erythrocyten und auch Megaloblasten bemerkenswert. Die weißen Blutzellen wiesen dagegen, abgesehen von der Verminderung ihrer absoluten Zahl, nichts Besonderes auf. Auch die Verminderung der eosinophilen Leukocyten war nicht so auffallend.

Aus den oben beschriebenen Ergebnissen darf man wohl folgendes behaupten:

Unter den intestinal entstehenden Giften verändert p-Oxyphenyläthylamin beim Meerschweinchen stark die Blutbeschaffenheit. Die Resultate des Tierexperiments aber ohne weiteres auf die Genese und Pathologie der Biermerschen Anämie übertragen zu wollen, liegt uns natürlich fern.

Der therapeutischen Anwendung des p-Oxyphenylamins steht natürlich nichts im Wege, denn zwischen der Intoxikations- und Wirkungsdosis liegt ein sehr weiter Spielraum.

Über die Einwirkung von Milchschimmel auf Phenylaminoessigsäure.

Von

Hans Horsters.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Bonn.)

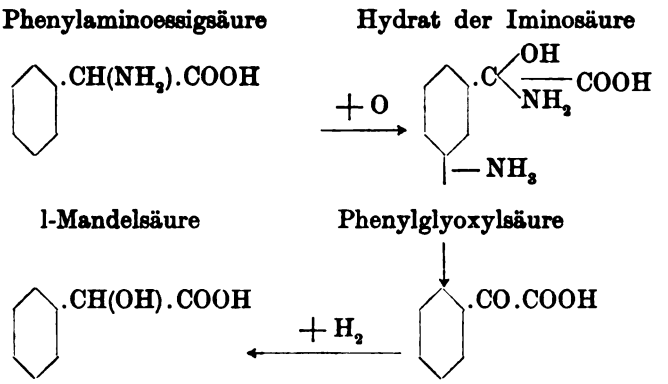
(Eingegangen am 1. Januar 1914.)

Vor längerer Zeit haben O. Neubauer und K. Fromherz[1]) nachgewiesen, daß bei der Einwirkung von Bierhefe wie auch von Preßhefe auf die körperfremde racemische Phenylaminoessigsäure als erstes Abbauprodukt Phenylglyoxylsäure in größerer Menge auftritt, die bei weiterem Abbau l-Mandelsäure liefert. Nebenher wurden dann noch p-Oxyphenyläthylalkohol, Benzylalkohol und l-Acetylphenylaminoessigsäure als Reaktionsprodukte aufgefunden. Während die Bildung der Alkohole durch die Arbeiten F. Ehrlichs[2]) bereits bekannt gewesen ist, enthalten sich Neubauer und Fromherz über die Entstehungsweise der l-Acetylphenylaminoessigsäure einer näheren Erörterung. Hinsichtlich des Auftretens der Phenylglyoxylsäure und der l-Mandelsäure nehmen sie an, daß die Mandelsäure aus der Phenylglyoxylsäure, die das nächste faßbare Abbauprodukt der Phenylaminoessigsäure bei der Hefegärung darstellt, entsteht, nicht aber umgekehrt die Ketosäure aus der Oxysäure durch Oxydation. Sie erbringen hierfür den Beweis, indem sie zeigen, daß die Hefe wohl imstande ist Phenylglyoxylsäure in geringem Maße in l-Mandelsäure umzuwandeln, während aus der Mandelsäure nur eine ganz geringe Menge von Ketosäure durch Hefe gebildet wird. Demzufolge geben Neubauer und Fromherz

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 326, 1910.

[2]) Diese Zeitschr. **8**, 438, 1908.

den Mechanismus der Umwandlungsreaktion durch nachfolgendes Schema wieder:



Diese Auffassung vom Reaktionsverlauf hat, abgesehen von dem Auftreten der sehr hypothetischen Iminosäure, den Umstand für sich, daß sie gestattet, einen teilweisen Parallelismus aufzustellen zwischen dem Abbau der Aminosäuren im Tierkörper und der gleichen Umsetzung durch die niederen Organismen, einen Vergleich, den Neubauer und Fromherz auch anführen. Daß es aber geraten ist, bei der Aufstellung derartiger Parallelen bzw. ihrer Verallgemeinerung Vorsicht walten zu lassen, glaube ich durch die folgenden Versuche dargetan zu haben.

Für eine physikalisch-chemische Arbeit hatte ich größere Mengen vollkommen reiner optisch-aktiver Mandelsäure nötig. Schwierigkeiten bei der Reindarstellung dieses Körpers führten mich dazu, unter anderem auch die Einwirkung von Oidium lactis, dem Milchschimmel, auf Phenylaminoessigsäure genauer zu untersuchen. Denn nach den Versuchsergebnissen F. Ehrlichs[1]), der durch die Einwirkung desselben Pilzes auf einige Aminosäuren, die diesen entsprechenden Oxysäuren erhalten hatte, war anzunehmen, daß die Einwirkung von Oidium lactis auf die zwar in der Natur nicht vorkommende racemische Phenylaminoessigsäure ähnlich verlaufen und zu einer optisch-aktiven Mandelsäure führen würde.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 888, 1911.

Meine Versuche[1]), die ungefähr 2 Jahre zurückliegen[2]), bezwecken also die Umwandlung der racemischen Phenylaminoessigsäure in optisch-aktive Mandelsäure durch Schimmelpilze. Nebenher sollte dabei geprüft werden, ob sich bei der Einwirkung von Oidium lactis auf diese Aminosäure Zwischenprodukte zwischen Aminosäure und Oxysäure, insbesondere die oben von Neubauer und Fromherz bei der Hefegärung beobachtete Phenylglyoxylsäure auffinden ließen. Ehrlich (l. c.) hat bei der Schimmelpilzgärung der oben angeführten Aminosäuren solche Zwischenprodukte nicht isolieren können.

Die Anordnung der Versuche, die Gewinnung des Pilzmycels usf. entspricht im allgemeinen den Angaben Ehrlichs (l. c.). Es wurden vier Nährlösungen angesetzt.

	I	II
Phenylaminoessigsäure (Kahlbaum) . . .	5,0 g	4,5 g
Invertzuckersirup[3])	25,0 g	—
Traubenzucker, rein	—	20,0 g
KH_2PO_4	2,0 g	1,5 g
$MgSO_4$	0,1 g	0,1 g
Leitungswasser	2 l	1,5 l
$NaCl + FeCl_3$	Spuren	Spuren

Zur Kontrolle erhielten zwei Nährlösungen von der Zusammen sammensetzung I und II an Stelle der Aminosäure 2 g KNO_3 als Stickstoffnahrung. Alle Lösungen wurden nach sorgfältiger Sterilisation mit Oidium lactis geimpft. Der zum Impfen verwendete Pilz war auf roher Milch gezüchtet und durch mehrmaliges Überimpfen auf Agar-Nährboden in Reinkultur erhalten worden. Er war nach Untersuchungen im botanischen Institut der Universität Bonn mit Oidium lactis identisch.

Nach 10wöchentlichem Stehen bei etwa 20° in mäßig hellem Raume kam das Wachstum des Pilzmycels in I und II zum Stillstand; in III und IV hatte der Pilz sich überhaupt nicht nennenswert entwickelt. Die letzteren Lösungen wurden daher nicht weiter untersucht. Eine mikroskopische Untersuchung des Pilzmycels zu Ende der Versuche ergab: 1. die ungeschädigte Reinheit der Kulturen, 2. die immerhin auffallende

---

[1]) Herrn Prof. F. Ehrlich, der mir auf meine Bitte hin die Bearbeitung dieses Themas in wohlwollender Weise überließ und mich durch seinen Rat allezeit bereitwilligst unterstützte, sage ich an dieser Stelle herzlichen Dank.

[2]) Die Versuchsergebnisse sind am 18. XI. 1912 in einer Sitzung der chem. Abteilung der Niederrh. Ges. f. Nat. u. Heilkunde mitgeteilt und in deren Berichten veröffentlicht worden.

[3]) v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten 1, 908, 1904.

Tatsache, daß der Pilz eine Unmenge von Sporen (Oidien) gebildet hatte, während die zum Impfen benutzten Reinkulturen fast frei von derartigen Gebilden waren.

Die vom Mycel befreiten Lösungen I und II zeigten bedeutende Abnahme des Drehungsvermögens; ihre Acidität gegen Phenolphthalein war in beiden Fällen etwa $^n/_{50}$. Aus der Menge des gebildeten Mycels und der unangegriffenen Aminosäure läßt sich folgende Stickstoffbilanz aufstellen:

	I.	II.
Gewicht des Mycels	2,4712 g	1,7693 g
Stickstoffgehalt (nach Kjeldahl) . .	0,2064 g	0,1241 g
entspricht an assimilierter Aminosäure	2,2276 g	1,3394 g
zurückgewonnene unangegriffene Aminosäure	1,7561 g	2,3932 g
mithin nicht mehr nachweisbare Aminosäure	1,0163 g	0,7674 g

Hieraus ist zu entnehmen, daß bei Zusatz von Invertzuckersirup und geringerer Konzentration der Nährlösung die Stickstoffassimilation intensiver vor sich geht. Die in beiden Fällen nicht mehr nachweisbare Aminosäure entspricht prozentualiter ungefähr den Mengenverhältnissen der anfangs zugesetzten Stickstoffnahrung. Wahrscheinlich ist dieser der verlorengegangenen Aminosäure entsprechende Stickstoff durch Autolyse der organischen Substanzen in nicht mehr assimilierbarer Form ausgetreten. Daß überdies bei derartigen Versuchen eine genaue Stickstoffbilanz nicht aufgestellt werden kann, hat Ehrlich bereits ausgeführt.

An Umsetzungsprodukten konnten aus der Gesamtmenge beider Flüssigkeiten isoliert werden[1]):

a) Alkohole, Aldehyde usw. . . 0,6696 g
b) Säuren usw. . . . . 1,5621 g.

Im einzelnen fand sich im Ätherauszug a) der alkalisch gemachten ursprünglichen Lösung:

Benzylalkohol, zum größeren Teil wohl Umsetzungsprodukt von Benzaldehyd (gleichzeitige Reduktion und Oxydation),

Spuren von Phenylglyoxylsäure, und wenige Zentigramme einer in zweigartig aneinanderliegenden Nädelchen krystallisierenden Verbindung vom Schmelzpunkte 70 bis 73°. Dieser Körper konnte nicht näher charakterisiert werden.

[1]) Ich habe mich bei der Trennung der Reaktionsprodukte an die Vorschriften von F. Ehrlich gehalten.

Wahrscheinlich ist es irgendein Ester, an dessen Aufbau die Umsetzungsprodukte des Nährzuckers mitbeteiligt sind.

Von Säuren b), deren Entstehung der Pilzwirkung zuzuschreiben ist, ließen sich isolieren:

ca. 0,5 g Benzoesäure,
Spuren von Ameisensäure und
0,1286 g fast reine l-Mandelsäure.

Letztere wies in alkoholischer Lösung in der Konzentration $c = 0{,}4278$ die spezifische Drehung

$$[\alpha]_D^{20} = -149{,}71^0$$

auf. Die spezifische Drehung einer reinen Rechtsmandelsäure habe ich in Alkohol von derselben Dichte bei $c = 1{,}521$ zu

$$[\alpha]_D^{20} = +151{,}04^0$$

bestimmt.

In Anbetracht der geringen Mengen wurden die Reaktionsprodukte qualitativ, jedoch einwandfrei, bestimmt. Die Identität der reinen l-Mandelsäure wurde außer durch Schmelzpunkt noch durch Mischschmelzpunkt mit reiner Rechtsmandelsäure sowie mit racemischer Mandelsäure festgestellt[1]).

Ein quantitativer Nachweis wurde geführt:

1. bei der Linksmandelsäure auf polarimetrischem Wege,
2. bei der Benzoesäure durch Titration.

Letztere Analyse sei wiedergegeben:

Verbrauch an $^n/_{10}$-Natronlauge:	
Gefunden	Berechnet für $C_7H_6O_2$
8,54 ccm	8,61 ccm.

Die obengenannte Phenylglyoxylsäure ließ sich nicht isolieren, jedoch war die für diese Säure spezifische Reaktion[2]) in den meisten Fällen, wo ihr Auftreten vermutet wurde, positiv. Ein Phenylhydrazon derselben darzustellen ist mir aber nicht gelungen. Ebensowenig habe ich eine be-

---

[1]) Dieses Verfahren besitzt im vorliegenden Falle größere Bedeutung, da die Schmelzpunkte der optisch-aktiven Mandelsäuren einerseits und der racemischen Mandelsäure andererseits um etwa 15° auseinanderliegen.

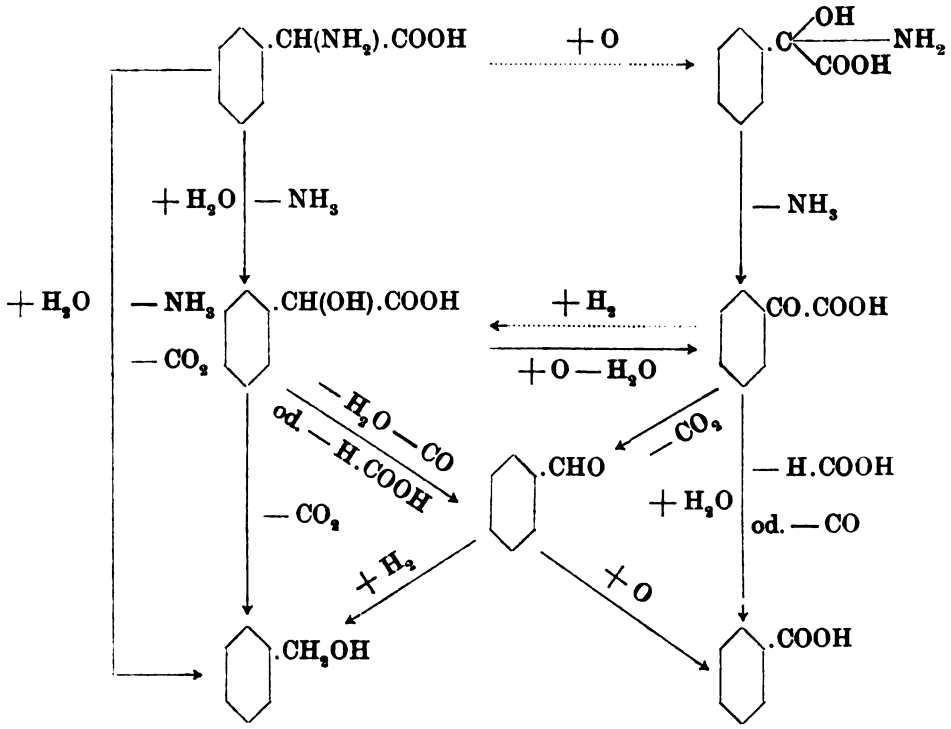
[2]) Claisen, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 12, 1505, 1879.

deutendere optische Aktivität bei der zurückgewonnenen Phenylaminoessigsäure feststellen können. Auch Acetylphenylaminoessigsäure habe ich unter dem Reaktionsprodukt nicht aufgefunden.

Nach den Beobachtungen bei vorstehenden Versuchen bildet sich durch Einwirkung von Oidium lactis auf racemische Phenylaminoessigsäure die Phenylglyoxylsäure als reguläres Zwischenprodukt nicht. Das steht im Gegensatz zu den Befunden bei der Vergärung von Aminosäuren durch Hefe. Die lange Dauer der Versuche (10 Wochen) für die endgültigen Ergebnisse verantwortlich zu machen, geht schon deshalb nicht an, weil im allgemeinen die Phenylglyoxylsäure beständig ist. Die Versuchsdauer ist durch das Fortschreiten der Pilzvegetation von vornherein gegeben. Hierin trat erst nach etwa 65 Tagen der Stillstand ein, der auf den Verbrauch des für Oidium lactis assimilationsfähigen Stickstoffs hinwies und die Unterbrechung der Versuche gestattete. Wenn trotzdem Spuren von Phenylglyoxylsäure nachzuweisen waren, so wird man deren Entstehung eher auf eine schwache Oxydation der Mandelsäure unter Einwirkung des Pilzes zurückzuführen haben. Der Abschluß der vorliegenden Arbeit würde sonach in dem Nachweis zu suchen sein, daß Oidium lactis Phenylglyoxylsäure nicht in größerem Umfange in optisch-aktive Mandelsäure umzuwandeln vermag.

In bezug auf die Entstehung der übrigen Reaktionsprodukte sei angeführt, daß der Benzylalkohol außer aus Benzaldehyd nach der bekannten Reaktion wohl zum Teil direkt aus der Phenylaminoessigsäure durch Desaminierung, CO_2-Abspaltung und Wasseranlagerung entstanden ist. Die Ameisensäure kann sowohl beim Abbau der Phenylaminoessigsäure zu Benzaldehyd und Benzoesäure entstanden sein, wie das im Reaktionsschema angedeutet ist, als auch wenigstens teilweise aus den Abbauprodukten des Nährzuckers stammen.

Der allgemeine Gang der Umwandlungsreaktion läßt sich daher durch folgendes Schema wiedergeben, in dem in bezug auf die Entstehungsweise der Phenylglyoxylsäure vorläufig beide Wege offen gelassen sind, obwohl allem Anscheine nach im vorliegenden Falle eine einfache Desaminierung mit gleichzeitiger Wasseranlagerung stattfindet.


.CH(NH2).COOH
+O
.C(OH)(NH2)COOH
+H2O −NH3
−NH3
+H2O −NH3 −CO2
.CH(OH).COOH
+H2
+O −H2O
CO.COOH
−H2O −CO
od. −H.COOH
−CO2
.CHO
−H.COOH
+H2O
od. −CO
+H2
+O
.CH2OH
.COOH

Über den Einfluß der intravenösen Infusion von sauren, alkalischen und Neutralsalz-Lösungen auf den respiratorischen Stoffwechsel.

Von

Alfred Leimdörfer.

(Aus der I. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 25. Juli 1913.)

Die Größe des Sauerstoffverbrauchs beim ruhenden, nüchternen Organismus gibt uns bekanntlich ein Bild über den Umfang derjenigen Oxydationsvorgänge, die für den normalen Ablauf der Lebensprozesse unbedingt notwendig sind, über den Grund- oder Erhaltungsumsatz. Dieser bleibt bei dem einzelnen Individuum unter normalen Verhältnissen fast auf einem konstanten Niveau. Stark verminderte Zufuhr sowie reichliches Angebot von Sauerstoff ändern nichts an dem Grundumsatz, selbst schwere Stoffwechselstörungen wie Diabetes vermögen ihn nicht zu alterieren. Es gibt in der Pathologie nur einen Zustand mit herabgesetztem Grundumsatz, das Myxödem. Um so interessanter ist die Beobachtung von Chvostek[1]), daß Säurevergiftung den Grundumsatz tief unter die Norm herabdrückt. Chvostek gab Kaninchen per os Salzsäure in Mengen von etwas mehr als 0,9 g pro Kilogramm (für 24 Stunden) in 2 bis 3 Portionen und untersuchte mit dem Rosenthalschen Respirationscalorimeter den Stoffwechsel. Sowie sich die Erscheinungen der Säurevergiftung ausgebildet hatten, war der Sauerstoffverbrauch um 30 bis 50% unter die Norm gesunken. Es wurden also durch die Säure tiefeingreifende Veränderungen gesetzt derart, daß der Ablauf der normalen Oxy-

[1]) Chvostek, Centralbl. f. inn. Med. **14**, 329, 1893.

dationen, die scheinbar das Existenzminimum bedeuten, gestört wurde.

Man sollte demgegenüber erwarten, daß Verstärkung der Alkalescenz der Gewebssäfte durch Alkalizufuhr den Grundumsatz steigern werde. Diese theoretische Erwägung fand zum Teil ihre Bestätigung durch das Experiment. C. Lehmann[1]) berichtete auf der Naturforscherversammlung in Magdeburg 1884 über Zunahme des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäureausscheidung nach Alkalidarreichung (nähere Einsicht in die Versuche war nicht möglich). A. Loewy[2]) konnte einige Stunden nach Einnahme von 5 g Soda keine Änderung des Umsatzes beobachten, hingegen stieg dieser nach täglicher Zufuhr von 3 g Soda (durch 12 Tage) bei einer kastrierten Hündin um 30% (A. Loewy[3]), die Untersuchung erfolgte mit dem Zuntz-Geppertschen Apparate).

Diese Versuchsergebnisse nach Säure- und Alkaligaben waren nun erst im Stadium der subakuten oder chronischen Säure- resp. Alkaliwirkung gewonnen. Es ließe sich gegen die Beweiskraft dieser Versuche vielleicht der Einwand erheben, daß die zugeführten Substanzen nicht unmittelbar an der Veränderung des Stoffwechsels beteiligt sind; könnten doch Säuren und Alkalien Organanomalien irgendwelcher Art veranlaßt haben, welche ihrerseits erst die ursächliche Rolle für die Änderung des Umsatzes gespielt hätten.

Es schien deshalb von Interesse zu sein, den Stoffwechsel unmittelbar nach der Applikation von Säuren und Alkalien zu untersuchen. Die vorliegenden, diesen Gegenstand behandelnden Untersuchungen nahmen ihren Ausgangspunkt in Versuchen, die gemeinsam mit Doz. Porges[4]) zwecks Feststellung der Änderung des respiratorischen Quotienten bei der Säurevergiftung ausgeführt wurden; sie betreffen den Gasstoffwechsel, und zwar den Grundumsatz des Kaninchens nach intravenöser Zufuhr von sauren und alkalischen Lösungen. Außerdem wurden, um die reine Salzwirkung auf den Gaswechsel kennen zu lernen, einige Versuche mit Neutralsalzlösungen angeschlossen.

[1]) C. Lehmann, zit. nach O. Loewi in Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von v. Noorden 2, 676.

[2]) A. Loewy, Arch. f. d. ges. Physiol. **43**, 515, 1888.

[3]) A. Loewy, Dubois' Arch. **1903**, 378.

[4]) O. Porges, diese Zeitschr. **46**, 1, 1912.

Methodik.

Ein Kaninchen, welches einen Tag im Hungerzustand war, wurde in Urethannarkose aufgebunden und tracheotomiert, sodann eine Kanüle in eine Vena jugul. ext. eingelegt. Mittels der Trachealkanüle wurde das Tier mit dem Zuntz-Geppertschen Apparate zwecks Analysierung der exspirierten Gase in Verbindung gesetzt. Zunächst mußte uns über den Normalwert des respiratorischen Stoffwechsels ein Vorversuch orientieren. Sowie dieser beendet war, begann die intravenöse Infusion. (Ihre Einlaufsgeschwindigkeit wurde so reguliert, daß pro Minute zirka 1 ccm der Lösung einfloß.) Im Verlaufe der Infusion wurde der Gasstoffwechsel wieder untersucht[1]). Als saure Lösungen kamen 3%, 5% und 10% Mononatriumphosphat, $^1/_4$- und $^1/_8$-Normalsalzsäure in Verwendung; um die Wirkung der Alkalien zu prüfen, wurden 2%, 4%, 5% und 6% Natriumcarbonat, 5% und 10% Trinatriumphosphat, ferner $^1/_4$- und $^1/_8$-Normalnatronlauge benützt, als Neutralsalzlösungen schienen Kochsalzlösungen geeignet zu sein, die in 4% Konzentration infundiert wurden. Um einen gewissen Maßstab zum Vergleiche des Alkalescenzgehaltes der sauren und alkalischen Lösungen zu besitzen, wurde dieser entsprechend einer $^1/_{10}$-Normalsalzsäure berechnet, wobei angenommen wurde, daß das saure und alkalische Phosphat im Organismus in das Dinatriumphosphat umgewandelt wird.

I. Versuche mit Infusion von sauren Lösungen.

In diesen Versuchen erfolgte eine Infusion von 3%, 5% und 10% Mononatriumphosphat (bis zu Mengen von etwas mehr als 4 g NaH_2PO_4) und von $^n/_4$- und $^n/_8$-Salzsäure (bis zu Mengen von 0,626 g HCl).

Während der Infusion konnte man öfters Zuckungen in verschiedenen Muskelgebieten beobachten, Blutzirkulation und Atmung schienen zumeist intakt zu sein, nur nach Zufuhr von größeren Mengen der höher konzentrierten Lösungen wurde die Atmung oberflächlicher, kleiner, setzte manchmal für Augenblicke gänzlich aus, dabei war der Cornealreflex erloschen. Wurde die Infusion jetzt abgestellt, erholte sich das Tier rasch, atmete wieder, bald auch in normalem Ausmaße, der Cornealreflex war wieder auszulösen.

Über die Zustände des Gasstoffwechsels während der Vergiftung gibt Tabelle I Aufschluß.

Der Sauerstoffverbrauch ist bei Infusion von niedrig konzentrierten Lösungen gesteigert (Tabelle I, Vers. 1 und 7). Diese Vermehrung scheint bedingt durch die Muskelbewegungen,

[1]) Für diese Untersuchung wurde die Gasuhr auf ein langsameres Tempo eingestellt, um die Versuchszeit während der Infusion etwas auszudehnen.

welche, wahrscheinlich durch den Reiz der eingeführten Lösung veranlaßt, fast immer während der Infusion zu konstatieren sind. Zum geringen Teil bildet die erhöhte Ventilation die Ursache für die Zunahme des Sauerstoffverbrauches. Bekanntlich sind Säuren sehr heftige Reize für das Atemzentrum (wir werden weiter unten auf diesen Punkt noch zurückkommen). Das Atemzentrum beantwortet den Säurereiz mit einer erhöhten Ventilation, die Atemmuskeln sind in verstärkte Aktion versetzt; dies muß sich in einer Vermehrung des Sauerstoffverbrauches kundgeben. Doch ist der Verstärkung der Atemtätigkeit keine erhebliche Bedeutung für die Zunahme des Sauerstoffverbrauches zuzuweisen. Denn setzen wir auf Grund von Versuchen von Zuntz und Hagemann[1]) beim Pferde und von A. Loewy[2]) beim Menschen (beim Kaninchen wurde der Einfluß der Atemarbeit auf den Sauerstoffverbrauch durch Versuche nicht festgestellt) für 100 ccm Mehrventilation einen Mehrverbrauch von 0,5 ccm Sauerstoff in Rechnung, so bleibt in den Versuchen mit Infusion von schwächer konzentrierten Lösungen der O_2-Verbrauch noch immer erheblich höher als in der Norm (Tabelle I, Vers. 1 und 7). Für die Zunahme des Sauerstoffverbrauches sind daher vor allem die beobachteten Muskelbewegungen als ursächlicher Faktor anzusehen.

Im Gegensatz zu dieser Steigerung des O_2-Verbrauches wird nach Zufuhr von höher konzentrierten Lösungen ein deutliches Absinken des O_2-Verbrauches manifest (Tabelle I, Vers. 2, 3, 4, 6, 8). Diese Verminderung des O_2-Verbrauches müssen wir natürlich direkt auf Rechnung der eingeführten Lösungen setzen. Es wird also auch im Stadium der akuten Säurevergiftung der Erhaltungsumsatz herabgedrückt.

Versuchen wir es, Einblick in die Ursache dieser Einschränkung zu gewinnen, so wäre zunächst in Erwägung zu ziehen, ob nicht das Blut in seiner Funktion als Sauerstoffträger durch die Säurevergiftung gelitten habe. Eine solche Vermutung können wir aber sogleich als ungerechtfertigt zurückweisen. Konnten doch Walter[3]) bei der Säurevergiftung

[1]) Zuntz und Hagemann, Neue Folge, Landw. Jahrb. 27. Ergänz. 3, 1898.

[2]) A. Loewy, Verhdl. d. Berl. physiol. Ges., Engelmanns Arch. f. Physiol. 1891.

[3]) Fr. Walter, Experim. Arch. 7, 148, 1877.

und Geppert[1]) bei der Blausäurevergiftung durch Blutgasanalysen den Nachweis erbringen, daß die Aufnahme des Sauerstoffs durch das Blut im normalen Umfange vor sich gehe. Wir glauben deshalb den Angriffspunkt der Säure in die Gewebssäfte oder Gewebe selbst verlegen zu müssen. Halten wir uns vor Augen, daß auch bei starker Erniedrigung des O_2-Verbrauches Atmung und Zirkulation in gutem Gange sind, so ist es vielleicht gestattet, anzunehmen, daß die konstatierte Erniedrigung des Erhaltungsumsatzes auf einer Einschränkung des Zellstoffwechsels, des Sterbestoffwechsels, nicht aber des Funktionsstoffwechsels (Herz-, Atemarbeit) beruhe (bekanntlich bilden diese beiden Stoffwechselgrößen die Komponenten des Erhaltungsumsatzes). Erst nach Zufuhr von größeren Mengen der hochkonzentrierten Lösungen wird auch der Funktionsstoffwechsel gestört, die Atmung wird klein, die Herzaktion schlecht. Die Pharmakologie hat uns mit so manchen Substanzen bekannt gemacht, von denen die einen bloß oder vorwiegend den Sterbestoffwechsel, nicht aber den Funktionsstoffwechsel beeinflussen, so Arsenik, die anderen aber die entgegengesetzte Wirkung ausüben (Narkotica).

Die Kohlensäureausscheidung nun ist ebenso wie der O_2-Verbrauch bei Infusion von niedrig konzentrierten Lösungen erhöht (Tabelle I, Vers. 1 und 7). Doch ist sie nicht parallel dem Sauerstoffverbrauch, sondern stärker gestiegen, als entsprechend diesem zu erwarten wäre. Der Grund für diese Zustände liegt in der Erhöhung der Ventilation, die durch die Säurezufuhr hervorgerufen wird. Durch die gesteigerte Atmung kommt es zu einer Mehrausscheidung von Kohlensäure (immer in der ersten Zeit der Infusion). Wenn der Sauerstoffverbrauch aber herabgesetzt ist, bei Infusion der stärker konzentrierten Lösungen (Tabelle I, Vers. 2, 3, 4, 6, 8), fällt die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure ebenfalls unter den normalen Spiegel; jetzt ändert sie sich aber in geringerem Ausmaße als der Sauerstoffverbrauch, wegen der Mehrventilation. Im weiteren Verlaufe der Infusion, dann, wenn bereits die Mehrabdunstung der Kohlensäure durch die verstärkte Atemtätigkeit erschöpft ist, verhält sich die Größe der ausgeschiedenen Kohlensäure

[1]) Geppert, zit. nach O. Loewi in Handb. d. Pathol. d. Stoffw. von v. Noorden 2, 719.

entsprechend dem Sauerstoffverbrauch (Tabelle I, Vers. 3). Die Schwankungen der Kohlensäuremenge spiegeln sich deutlich im respiratorischen Quotienten wieder, er muß demgemäß anfangs wachsen, später nähert er sich ungefähr der Norm.

Es möge hier darauf hingewiesen werden, daß bei diesen Versuchen mit akuter Säurevergiftung respiratorische Quotienten, die der Einheit nahekommen, nicht beobachtet wurden, eine Beobachtung, auf die in der Arbeit von Porges[1]), die bloß einige der hier angeführten Versuche berücksichtigt, näher eingegangen ist.

Wie bereits erwähnt, fanden wir bei den Versuchen ein Ansteigen des Atemvolumens; wechselnd in seiner Extensität, ist dies mitunter beträchtlich, jedoch immer zu konstatieren. Diese Zunahme des Atemvolumens kann unter mancherlei Umständen in Erscheinung treten, vor allem dann, wenn die Atemfrequenz vermehrt ist. Ist dies der Fall, so werden die Atemzüge flacher werden, die schädlichen Räume häufiger ventiliert, das Atemvolumen größer, dabei aber die Atemtiefe geringer, so daß die Alveolarventilation unverändert bleibt. Bei unseren Versuchen erfährt die Atemfrequenz bloß eine kleine Zunahme, man findet dementsprechend keine Einschränkung, öfters sogar eine nicht unbedeutende Vermehrung der Atemtiefe (Tabelle I, bloß im Vers. 8 ist eine leichte Verringerung der Atemtiefe zu beobachten). Die Veränderung der Atemfrequenz ist demnach nicht in ursächliche Beziehung zum gesteigerten Atemvolumen zu setzen. Hingegen müssen wir die Vergrößerung des Atemvolumens, welche mit einer Steigerung der Atemtiefe einhergeht, als Folgeerscheinung einer Reizung des Atemzentrums auffassen. Treffen abnorme Reize das Atemzentrum, so reagiert dieses darauf mit einer Verstärkung der Ventilation, Atemvolumen und Atemtiefe steigt. In unseren Versuchen bilden diese abnormen Reize die eingeführten sauren Lösungen; viele Untersuchungen [Walter[2]), Lehmann[3]), Winterstein[4]), Porges, Leimdörfer und Markovici[5])] haben uns die Bedeutung

[1]) l. c.

[2]) Walter, l. c.

[3]) C. Lehmann, Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 284, 1888.

[4]) E. Winterstein, Arch. f. d. ges. Physiol. **138**, 167, 1910.

[5]) Porges, Leimdörfer und Markovici, Wiener klin. Wochenschr. **1910**, Nr. 40; Zeitschr. f. klin. Med. **73**, 389, 1911.

der Säure für das Atemzentrum klargelegt. Wir wissen, daß bereits geringe Vermehrung der H-Ionen im Blute von einer heftigen Reaktion des Atemzentrums gefolgt ist. In zweiter Linie könnten bei unseren Versuchen mit Infusion von niedrig konzentrierten Lösungen die gesteigerten Oxydationsvorgänge von Anlaß für die Erhöhung des Atemvolumens und der Atemtiefe sein; es wird in den arbeitenden Muskeln mehr Kohlensäure als in der Norm gebildet, bei exzessiver Arbeit (Krämpfen) entstehen saure Substanzen; hierdurch wird das Atemzentrum auch gereizt. Sowie aber der Sauerstoffverbrauch erniedrigt ist, können nur die zugeführten Säuren als der auslösende Reiz für die erhöhte Ventilation betrachtet werden.

Wie sonst, hat auch hier die prozentuelle Konzentration der dargereichten Lösung eine ausschlaggebende Bedeutung. Wir sehen in Versuch 1 nach Zufuhr von 1,794 g NaH_2PO_4 in $3\,^0/_0$iger Lösung keine Herabsetzung des Sauerstoffverbrauches, sogar eine leichte Steigerung desselben, während in Versuch 3 die Infusion von 1,675 g NaH_2PO_4 in $5\,^0/_0$iger Lösung bei einem ungefähr gleich großen Tier ein deutliches Abfallen des Sauerstoffverbrauches zur Folge hat. (Ähnliche Verhältnisse sind aus den Versuchen 7 und 8 ersichtlich, nach 0,626 g HCl, eingeführt als $^n/_4$-HCl, Steigerung, nach 0,538 g HCl, gegeben als $^n/_8$-HCl, bereits Abnahme des Sauerstoffverbrauches.) Noch weitere Verstärkung der prozentuellen Konzentration zieht bedeutendere Verringerung des Sauerstoffverbrauches nach sich (Tabelle I, Vers. 6).

Dieser Umstand macht es wohl wahrscheinlich, daß der Ionenwirkung keine ausschlaggebende Bedeutung zuzuschreiben ist, da doch die Ionisation mit der Steigerung der prozentuellen Konzentration abnimmt.

Daß im Versuch 5 trotz hoher prozentueller Konzentration keine Änderung der Oxydationen manifest wird, dürfte wohl seinen Grund in individuellen Verschiedenheiten des Versuchstieres haben.

II. Versuche mit Infusion von alkalischen Lösungen.

Die Kaninchen, denen alkalische Flüssigkeiten infundiert wurden, verhielten sich während der Infusion ähnlich wie die Tiere bei der Säurevergiftung. Auch hier traten öfters Muskel-

bewegungen auf, Zirkulation und Atmung schienen nicht merklich geschädigt, doch nach Darreichung von reichlich Alkalien setzte die Atmung aus, der Cornealreflex war nicht auszulösen; bei Abstellung der Zufuhr der alkalischen Lösungen erholte sich das Tier zumeist vollständig wieder. Wie es Tabelle II und III illustrieren, bleibt bei einer gewissen prozentuellen Konzentration der Lösungen der Gaswechsel nahezu unverändert (Tabelle II und III, Vers. 9, 13, 15). Wird die Konzentration vermehrt, so ist der Sauerstoffverbrauch erhöht, das Atemvolumen zumeist etwas vergrößert, die Atemfrequenz nicht wesentlich beeinflußt, die Atemtiefe demnach unverändert oder leicht gesteigert. Man ist geneigt, für den vermehrten Sauerstoffverbrauch ähnliche Ursachen zu vermuten wie bei der Säurevergiftung (Muskelbewegungen) und die Vergrößerung des Atemvolumens und der Atemtiefe auf die durch die Muskelbewegungen bedingten gesteigerten Oxydationen zu beziehen. Immerhin wäre vielleicht im Hinblick auf die eingangs erwähnten Befunde von Lehmann[1]) und Loewy[2]) die Ansicht nicht ganz von der Hand zu weisen, daß die Zunahme der Oxydationsvorgänge, welche bei der chronischen Alkaliwirkung zu beobachten war, auch bei der akuten Alkaliwirkung anzutreffen ist.

Auffallenderweise sinken aber die Oxydationen, sobald dem Tier reichlich Alkali zugeführt wird (Tabelle II und III, Versuch 10, 14, 17, 18, 19, 21), ohne daß das Tier in extremis wäre, denn das Atemvolumen, speziell die Atemtiefe, ist nahezu unverändert. Die Kohlensäureausscheidung wird in den Alkaliversuchen stärker herabgesetzt als der Sauerstoffverbrauch, eine Erscheinung, die im respiratorischen Quotienten gut merklich zum Ausdruck kommt. Wir werden wohl nicht fehlgehen, wenn wir annehmen, daß diese Verminderung der ausgeschiedenen Kohlensäuremenge auf einer Bindung der Blutkohlensäure durch die eingeführten Alkalien beruht. Das Atemvolumen fanden wir, wie schon erwähnt, manchmal unverändert, mitunter erhöht, selten etwas herabgesetzt, die Atemtiefe zumeist unverändert. Wir würden auf Grund der Versuche von Lehmann[3]),

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) Lehmann, Arch. f. d. ges. Physiol. **42**, 284, 1888.

Hougardy[1]), Mosso[2]) u. a., die nach Zufuhr von alkalischen Lösungen, speziell von Na_2CO_3 und NaOH, eine Erniedrigung der Atmung, selbst Apnoe beobachteten, ähnliche Verhältnisse bei unseren Alkaliversuchen postulieren. Doch sind die höheren Konzentrationen der eingeführten Lösungen bei unseren Versuchen die Veranlassung für die andersartige Reaktion auf Alkalidarreichung.

Wollen wir der Ursache des herabgesetzten Umsatzes bei großer Alkalizufuhr nachgehen, so wäre auch hier vorerst zu bedenken, ob nicht das Blut durch die Alkaliüberschwemmung in seiner Eigenschaft als Transportmittel des Sauerstoffs geschädigt ist. Dies können wir nicht annehmen, da doch selbst bei reichlicher Alkalizufuhr der Sauerstoffverbrauch in normalem Ausmaße erfolgt, außerdem aber längere Zeit fortgesetzte Alkaligaben den Umsatz sicher nicht erniedrigen. Hingegen wird auch nach großer Alkalidarreichung in ähnlicher Weise wie bei der Säurevergiftung in den Gewebssäften oder Geweben eine Oxydationsstörung gesetzt. Diese Tatsache, daß zwei Substanzen, die sonst biologisch entgegengesetzte Wirkungen entfalten, in gleicher Art schädigend in den Ablauf der normalen Verbrennungsvorgänge eingreifen, legt uns den Gedanken nahe, bei beiden Körpern den gleichen ursächlichen Faktor zu supponieren; es dürfte die Änderung der Salzkonzentration des Blutes durch die Infusion der hochkonzentrierten Säure- und Alkalilösungen von großer, vermutlich ausschlaggebender Bedeutung für die beobachteten Erscheinungen sein. Beweisend für diese Anschauung ist es vielleicht, daß die Oxydationsstörung von der prozentuellen Konzentration der einzelnen alkalischen Lösungen bis zu einem gewissen Grade abhängig erscheint, während dem Alkalescenzgrad im allgemeinen nicht eine dominierende Rolle in der Beeinflussung des Stoffwechsels zukommt. Denn Natriumcarbonatinfusion in einer Menge entsprechend ungefähr 180 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure pro Kilogramm Tier ist von einer Herabsetzung des Sauerstoffverbrauches gefolgt (Tabelle II, Vers. 10), das Trinatriumphosphat bewirkt aber schon in einer Menge entsprechend 30 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure (Tabelle III, Vers. 17) und $^n/_3$-Natronlauge entsprechend 120 ccm

[1]) Hougardy, Arch. internat. de physiol. 1, 17, 1904.

[2]) A. Mosso, Arch. ital. d. biol. 42, 186, 1904.

$^n/_{10}$-HCl (Tabelle III, Vers. 21) pro Kilogramm Tier eine Erniedrigung des Umsatzes. Bei Vergleich der einzelnen Lösungen hinsichtlich ihrer Wirkungen auf den Grundumsatz wäre noch zu erwägen, ob nicht Verschiedenheiten in der molekularen Zusammensetzung der einzelnen Lösungen die Differenzen im Verhalten derselben rechtfertigen. Einer 10%igen Trinatriumphosphatlösung (Molekulargewicht 380,4) ist eine 2 bis 3%ige Natriumcarbonatlösung (Molekulargewicht des calcinierten Na_2CO_3 106,1) und eine 1 bis 2%ige Natronlauge ungefähr $^n/_3$-Natronlauge (Molekulargewicht 40,1) äquimolekular. Es wird nun bei Zufuhr von 10% Na_3PO_4 bereits in einer Menge von 35,6 ccm (Vers. 17), 38 ccm (Vers. 18), 33,7 ccm (Vers. 19) eine Erniedrigung des Sauerstoffverbrauches merklich, während diese nach Eingabe von 103,8 ccm einer 2%igen Na_2CO_3-Lösung (Vers. 9) und nach Darreichung von 47,5 ccm $^n/_3$-NaOH (Vers. 21) noch nicht ersichtlich ist, nach 105,3 ccm $^n/_3$-NaOH (Vers. 21) in geringem Grade besteht (die Versuchstiere waren in diesen Versuchen fast in gleichem Gewicht). Natriumcarbonat und Natronlauge scheinen in ihrer Wirkung nicht stark voneinander abzuweichen (nach 103,8 ccm Na_2CO_3 in 2%iger Lösung fast unveränderter Sauerstoffverbrauch [Vers. 9], nach 105,3 ccm $^n/_3$-NaOH leichte Erniedrigung des Sauerstoffverbrauches [V. 21]; dabei sind die Alkalescenzwerte nicht viel differierend: 390,61 ccm $^n/_{10}$-HCl gegenüber 351,0 ccm $^n/_{10}$-HCl). Das Trinatriumphosphat dürfte aber den anderen alkalischen Lösungen überlegen sein (nach 35,6 ccm einer äquimolekularen Lösung [Vers. 17] Herabserzung des Umsatzes). Diese Überlegenheit beruht nun, wie schon erwähnt, nicht auf erhöhter Alkalescenz (vgl. Vers. 9, 17, 21). Die Ionisation wird wohl auch bei den Alkaliversuchen nicht von hervorragender Bedeutung sein, da so wie bei den Säureversuchen die Wirkung auf den Gaswechsel mit der prozentuellen Konzentration steigt.

Es hat den Anschein, als ob dem alkalischen Phosphorsalz selbst neben seiner Bedeutung als Alkali noch eine oxydationshemmende Komponente innewohnt, so daß es den sauren Lösungen gleichwertig ist (vgl. Tabelle I, Vers. 2, und Tabelle III, Vers. 17), eine 5%ige NaH_2PO_4-Lösung ist annähernd äquimolekular einer 10%igen Na_3PO_4-Lösung), während sonst die äquimolekularen alkalischen Lösungen den

Wirkungen der sauren Lösungen nachstehen (vgl. Tabelle I, Vers. 2, und Tabelle II und III, Vers. 9 und 21). Vielleicht beruht die Überlegenheit des alkalischen Phosphates auf seiner verzögerten Ausscheidung gegenüber den anderen Substanzen; hierdurch kann es länger seine Wirkung entfalten. Seine Äquivalenz gegenüber dem sauren Phosphat würde für eine solche Annahme sprechen, ebenso wie Versuch 18 (Tabelle III), in dem das Kaninchen, dessen Niere anscheinend nicht gesund war, bereits nach einer kleinen Dosis von Na_2PO_4 (4,7 g, eingeführt als 10%ige Lösung) einging.

III. Versuche mit Infusion von Neutralsalzlösungen.

A. Loewy[1]) untersuchte die Wirkung eines neutralen Salzes, des Glaubersalzes, auf den Gasstoffwechsel; er fand mitunter eine 30 bis 35%ige Steigerung des Umsatzes nach Einnahme des Salzes. Doch ist die Erhöhung des Umsatzes auf die stark vermehrte Darmarbeit zu beziehen.

Intravenöse Infusion einer 4%igen Kochsalzlösung, einer Lösung, die einer 10%igen Mononatriumphosphatlösung fast äquimolekular ist, wird von den Kaninchen ohne Zeichen einer Schädigung vertragen, solange nicht eine große Menge eingeführt ist. Der Gaswechsel bleibt unverändert, selbst dann, wenn Infusion der gleichen Menge von NaH_2PO_4 den Umsatz deutlich erniedrigt (vgl. Tabelle IV, Vers. 22 und 24, und Tabelle I, Vers. 4 und 6). Die Ausscheidung des Kochsalzes erfolgt aber rascher als die des Phosphates; das Phosphat kann länger einwirken. Immerhin dürfte die Verzögerung der Ausscheidung des Phosphats gegenüber dem Kochsalz nicht in gleichem Verhältnis zu der Verminderung des Umsatzes stehen. Es wird also bei der Phosphatwirkung neben der Salzwirkung eine Säurewirkung anzunehmen sein. Zu dieser Annahme berechtigt uns auch die konstatierte Erniedrigung des Umsatzes bereits nach Infusion von geringen Mengen selbst einer 5%igen NaH_2PO_4-Lösung (Tabelle I, Vers. 2). Einer 5%igen sauren Phosphatlösung ist, wie wir sahen, eine 10%ige alkalische Phosphatlösung äquimolekular und in ihrem Einfluß auf den Gasstoffwechsel äquivalent (vgl. Tabelle I, Vers. 2, und Tabelle III, Vers. 17). Angesichts dieser Tatsache werden wir auch der

[1]) A. Loewy, Arch. f. d. ges. Physiol. **43**, 575, 1888.

Wirkung des alkalischen Phosphats nicht eine Salzwirkung allein zugrunde legen können, hingegen das Alkali und vielleicht das Phosphat selbst (kraft seiner Ionenwirkung) auch als Ursache für die Erniedrigung des Umsatzes beschuldigen müssen. Bei der Natriumcarbonatinfusion scheint die Salzwirkung stark in den Vordergrund des Einflusses auf den Stoffwechsel gerückt zu sein. Denn selbst die Zufuhr von 5,31 g Natriumcarbonat (88,5 ccm einer $6^0/_0$igen Lösung) ist noch nicht von einem Absinken des Umsatzes gefolgt (Tabelle II, Vers. 13). Eine $4^0/_0$ige NaCl-Lösung ist allerdings erst einer $7{,}6^0/_0$igen Natriumcarbonatlösung äquimolekular, trotzdem erscheint uns die erwähnte Beobachtung auffällig, da der Alkalescenzgrad der Lösung sehr hoch ist (1001,95 $^n/_{10}$-HCl entsprechend), andererseits bereits eine 2 bis $3^0/_0$ige Na_2CO_3-Lösung einer, den Umsatz herabsetzenden $10^0/_0$igen Na_2PO_4-Lösung äquimolekular ist. (Das Absinken der Oxydationen in Versuch 10, Tabelle II, schon nach Infusion von 1,808 g Na_2CO_3 [45,2 ccm einer $4^0/_0$igen Lösung] findet seine Erklärung in der Kleinheit des Versuchstieres.)

Nach Infusion von reichlich Kochsalz beobachteten wir nun auch eine Einschränkung des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlensäureausscheidung (Tabelle IV, Vers. 22). In Versuch 23, Tabelle IV, sind die Oxydationen merkwürdig früh gesunken. Dies dürfte durch eine Nierenstörung des Kaninchens bedingt sein; es hatte während des ganzen Versuchs nicht uriniert.

Die Herabsetzung des Umsatzes nach reichlicher Kochsalzzufuhr müssen wir wohl als die Folge einer reinen Salzwirkung auf die Gewebssäfte oder Gewebe betrachten, da kein Grund vorliegt, eine Störung des Gasaustausches im Blute anzunehmen. Diese Steigerung der Salzkonzentration scheint auch eine leichte Reizwirkung auf das Atemzentrum auszuüben, das Atemvolumen und die Atemtiefe sind leicht vergrößert, wenn der Sauerstoffverbrauch nicht verringert ist (Tabelle IV, Vers. 22 und 24), erniedrigt wird aber das Atemvolumen und die Atemtiefe, wenn der Umsatz herabgesetzt ist (Tabelle IV, Vers. 22 und 23[1]).

[1]) Die Annahme, die gefundenen Änderungen im Gaswechsel bei den vorliegenden Säure-, Alkali- und Neutralsalzversuchen auf Abkühlung des aufgebundenen Tieres zu beziehen, können wir wohl nicht machen. Denn in mehreren Versuchen wird trotz längerer Dauer derselben keine Änderung des Gaswechsels ersichtlich, weil die prozentuelle Konzentration oder Menge der infundierten Flüssigkeit nicht genügend groß war (siehe z. B. Vers. 9, 13, 24). Würde bloß oder hauptsächlich die Abkühlung

Daß auch Kochsalzüberladung des Organismus den Stoffwechsel so schwer schädigt, dürfte ein Licht auf die Pathologie gewisser Zustände werfen, die mit Salzanreicherung des Organismus einhergehen, speziell der chlorämischen Form der Nephritis, jener Form, bei der die Niereninsuffizienz vor allem unter dem Bilde beträchtlicher Wasser- und Kochsalzretention in Szene tritt. Dürften auch für die Symptomatologie des Coma uraemicum Säuren, saure Phosphate, sowie andere harnfähige Stoffe als ätiologische Faktoren in Betracht kommen, so wird wohl auch die Retention des Kochsalzes und vielleicht anderer neutraler Salze, deren sich die kranke Niere nicht entledigen kann, für die Intensität der urämischen Erscheinungen verantwortlich zu machen sein. Eine Stütze für diese Anschauung dürfte uns Versuch 23 (Tabelle IV) geben, in dem, wie erwähnt, die Niere scheinbar insuffizient war und sich das Tier in seinen Oxydationsvorgängen etwas abnorm gegenüber der Kochsalzzufuhr verhielt. Daß auch bei sonstigen Zuständen von Salzanhäufung im Körper, wie sie sich bei Wasserverarmung des Organismus (Diabetes) naturgemäß einstellen muß, die Salzwirkung als eine Mitursache für die schweren Krankheitserscheinungen in Rechnung gezogen werden kann, dürfen wir wohl mit Recht vermuten.

Zusammenfassung.

1. Unmittelbar nach intravenöser Infusion von sauren Lösungen sinkt der Grundumsatz unter den Normalwert.

2. Auch Zufuhr von alkalischen Lösungen in einer gewissen prozentualen Konzentration bewirkt sogleich nach der Infusion eine Einschränkung des Grundumsatzes.

3. Reichliche Kochsalzdarreichung hat ebenfalls sofort ein Abfallen der Oxydationsvorgänge zur Folge.

Es hat den Anschein, als ob der Wirkung der sauren, alkalischen und Neutralsalz-Lösungen hauptsächlich eine Salzwirkung zugrunde liege.

Zum Schlusse möchte ich es nicht unterlassen, auch an dieser Stelle Herrn Priv.-Doz. Dr. Otto Porges für die Unterstützung bei dieser Arbeit bestens zu danken.

von Bedeutung für Anderungen des Gaswechsels sein, so müßte dies auch in diesen Versuchen gut merklich zum Ausdruck kommen. Selbstverständlich wurde darauf geachtet, die Abkühlung der aufgebundenen Tiere möglichst gering zu gestalten.

Tabelle I.

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
1	14.XII.1912	3,100	1073	20,27	26,07	55	—	19,5	26,07	0,778		Vorversuch.
	$4^h22'$ p.m.–$4^h42'$		1216	24,20	30,29	55	143,0	22,1	29,54	0,779	40,7 ccm 3% NaH_2PO_4 = 1,221 g NaH_2PO_4 (88,45 ccm n/10-HCl)	
	5^h 33'–6^h 0'											
	6^h 15'–6^h 40'		1315	24,86	28,74	54	242,0	24,35	27,49	0,865	+ 19,1 ccm 3% NaH_2PO_4 = 59,8 ccm 3% NaH_2PO_4 = 1,794 g NaH_2PO_4 (129,7 ccm n/10-HCl)	Nach weiterer Infusion von 22 ccm 3% NaH_2PO_4 Exitus.
2	18. VI. 1912	2,300	840,0	21,42	30,91	—	—	—	30,91	0,693		Vorversuch.
	5^h 8' p.m.–5^h 33'		879,9	14,85	18,37	—	39,9	—	18,17	0,809	28,3 ccm 5% NaH_2PO_4 = 1,415 g NaH_2PO_4 (102,95 ccm n/10-HCl)	
	5^h 58'–6^h 31'											
3	18. I. 1913	3,300	702,1	20,71	24,50	49	—	14,33	24,50	0,845		Vorversuch.
	$4^h11'$ p.m.–$4^h41'$		928,9	19,97	21,55	50	226,8	18,52	20,45	0,926	33,5 ccm 5% NaH_2PO_4 = 1,675 g NaH_2PO_4 (121,8 ccm n/10-HCl)	
	5^h 30'–6^h 4'											
	6^h 36'–7^h 12'		842,2	17,01	21,73	—	140,1	—	20,00	0,783	+ 16 ccm 5% NaH_2PO_4 = 49,5 ccm 5% NaH_2PO_4 = 2,475 g NaH_2PO_4 (179,8 ccm n/10-HCl)	
4	26. VI. 1912	2,900	627,0	23,25	30,59	48	—	13,07	30,59	0,760		Vorversuch.
	$4^h33'$ p.m.–$5^h10'$		761,2	21,01	23,75	44	134,2	17,30	23,05	0,885	41,9 ccm 10% NaH_2PO_4 = 4,19 g NaH_2PO_4 (303,78 ccm n/10-HCl)	
	5^h 32'–6^h 52'											
5	1. VII. 1913	3,500	500,6	15,87	23,50	77	—	6,50	23,50	0,675		Vorversuch.
	4^h 8' p.m.–4^h 49'		1044,0	21,05	25,78	79	543,4	13,20	23,03	0,817	43,5 ccm 10% NaH_2PO_4 = 4,35 g NaH_2PO_4 (315,37 ccm n/10-HCl)	
	5^h 11'–6^h 0'											
6	6. VII. 1912	3,500	714,4	18,72	31,31	36	—	19,84	31,31	0,598		Vorversuch.
	$4^h28'$ p.m.–$4^h58'$		914,4	17,04	24,05	39	200,0	22,30	23,05	0,708	42 ccm 10% NaH_2PO_4 = 4,2 g NaH_2PO_4 (304,5 ccm n/10-HCl)	
	5^h 45'–6^h 43'											
7	20. II. 1913	3,000	806,5	18,55	22,18	48	—	16,79	22,18	0,836		Vorversuch.
	$3^h28'$ p.m.–$3^h58'$		1052,0	26,00	31,15	51	245,5	20,63	29,90	0,834	24,6 ccm n/4-HCl = 0,224 g HCl (61,5 ccm n/10-HCl)	
	4^h 33'–5^h 25'											

	5h 55′–6h 26′		941,7	24,01	27,12	—	135,2	—	26,42	0,885	+ 18,6 ccm n/4-HCl = 43,2 ccm n/4-HCl = 0,394 g HCl (108 ccm n/10-HCl)	
	7h 27′–7h 57′		990,9	23,68	27,50	—	184,4	—	26,60	0,861	+ 25,5 ccm n/4-HCl = 68,7 ccm n/4-HCl = 0,626 g HCl (171,7 ccm n/10-HCl)	
8	1. III. 1913	3,500	1090	31,28	36,95	52	—	20,96	36,95	0,847		Vorversuch.
	4h 30′ p.m.–4h 51′		1139	31,67	38,05	64	49,0	17,80	37,80	0,832	21,7 ccm n/3-HCl = 0,265 g HCl (72,3 ccm n/10-HCl)	
	5h 34′–6h 1′											
	6h 39′–7h 8′		1175	29,14	33,81	68	85,0	17,28	33,41	0,862	+ 22,4 ccm n/3-HCl = 44,1 ccm n/3-HCl = 0,538 g HCl (147 ccm n/10-HCl)	

Tabelle II.

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
9	29. XI. 1912	3,000	600,6	16,28	23,30	57	—	10,54	23,30	0,698		Vorversuch.
	5h 37′ p.m.–6h 14′		636,2	15,52	23,03	39	35,6	16,31	22,83	0,674	65,5 ccm 2% Na_2CO_3 = 1,31 g Na_2CO_3 (247,19 ccm n/10-HCl)	
	7h 9′–7h 57′											
	9h 28′–10h 31′		502,8	16,24	23,18	38	—	13,21	23,18	0,701	+ 38,3 ccm 2% Na_2CO_3 = 103,8 ccm 2% Na_2CO_3 = 2,07 g Na_2CO_3 (390,61 ccm n/10-HCl)	
10	28. IX. 1912	1,900	799,6	20,71	24,64	—	—	—	24,64	0,840		Vorversuch.
	6h 25′ p.m.–6h 52′		560,5	14,74	21,30	53	—	10,58	21,30	0,692	45,2 ccm 4% Na_2CO_3 = 1,808 g Na_2CO_3 (341,55 ccm n/10-HCl)	
	7h 51′–8h 48′											
	9h 0′–9h 59′		525,4	11,92	15,40	60	—	8,75	15,40	0,774	+ 47,3 ccm 4% Na_2CO_3 = 92,5 ccm 4% Na_2CO_3 = 3,70 g Na_2CO_3 (698,19 ccm n/10-HCl)	
11	15. IV. 1913	2,700	537,5	15,83	21,21	44	—	12,22	21,21	0,746		Vorversuch.
	5h 46′ p.m.–6h 12′		699,8	22,64	34,12	—	162,3	—	33,32	0,664	75,5 ccm 4% Na_2CO_3 = 3,02 g Na_2CO_3 (569,87 ccm n/10-HCl)	
	7h 36′–8h 21′											

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
	9h 6′–9h 53′		658,2	21,59	31,79	58	120,7	11,35	31,14	0,679	+ 34,5 ccm 4% Na_2CO_3 = 110,0 ccm 4% Na_2CO_3 = 4,4 g Na_2CO_3 (830,28 ccm n/10-HCl)	
12	17. IV. 1913	3,000	695,8	20,91	28,69	—	—	—	28,69	0,729		Vorversuch.
	4h 2′ p.m.–4h 32′		842,7	25,03	34,80	—	146,9	—	34,05	0,719	51 ccm 5% Na_2CO_3 = 2,55 g Na_2CO_3 (481,18 ccm n/10-HCl)	
	5h 35′–6h 11′											
	6h 39′–7h 17′		847,4	27,58	38,56	—	151,6	—	37,71	0,715	+ 29,8 ccm 5% Na_2CO_3 = 80,8 ccm 5% Na_2CO_3 = 4,04 g Na_2CO_3 (762,35 ccm n/10-HCl)	
	8h 6′–8h 47′		742,9	25,70	36,36	—	47,1	—	36,11	0,707	+ 56,2 ccm 5% Na_2CO_3 = 137 ccm 5% Na_2CO_3 = 6,85 g Na_2CO_3 (1292,59 ccm n/10-HCl)	
	9h 19′–10h 11′		588,3	19,23	30,49	—	—	—	30,49	0,631	+ 36 ccm 5% Na_2CO_3 = 173 ccm 5% Na_2CO_3 = 8,65 g Na_2CO_3 (1632,22 ccm n/10-HCl)	
13	19. IV. 1913	2,600	612,8	15,96	23,38	46	—	13,32	23,38	0,683		Vorversuch.
	6h 23′ p.m.–6h 57′		595,0	15,50	24,57	60	—	9,91	24,57	0,631	62,2 ccm 6% Na_2CO_3 = 3,732 g Na_2CO_3 (703,85 ccm n/10-HCl)	
	8h 7′–9h 2′											
	10h 11′–11h 7′		517,5	14,65	23,83	60	—	8,62	23,83	0,615	+ 26,3 ccm 6% Na_2CO_3 = 88,5 ccm 6% Na_2CO_3 = 5,31 g Na_2CO_3 (1001,99 ccm n/10-HCl)	
	11h 29′–12h 24′		536,8	16,13	22,59	—	—	—	22,59	0,714	—	
14	5. X. 1912	1,750	468,4	13,58	19,41	58	—	8,08	19,41	0,699		Vorversuch.
	7h 10′ p.m.–8h 4′		325,7	5,993	12,60	72	—	4,52	12,60	0,475	56,8 ccm 10% Na_2CO_3 = 5,68 g Na_2CO_3 (1071,82 ccm n/10-HCl)	
	8h 46′–10h 13′											
	10h 40′–12h 32′		275,5	6,268	9,477	60	—	4,59	9,48	0,661	—	

Tabelle III.

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
15	3. XII. 1912 6h 35′ p.m.—7h 6′	3,300	1012	27,32	30,86	72	—	14,05	30,86	0,885		Vorversuch.
	7h 51′—8h 21′		1038	23,78	30,53	74	26	14,02	30,41	0,779	66,6 ccm 5% Na_3PO_4 = 3,33 g Na_3PO_4 (87,58 ccm n/10-HCl)	
16	28. XII. 1912 3h 14′ p.m.—3h 39′ 30″	3,300	807,5	20,03	21,08	—	—	—	21,08	0,950		Vorversuch.
	4h 51′—5h 18′		1144,0	24,80	33,58	—	306,5	—	32,08	0,739	49,5 ccm 5% Na_3PO_4 = 2,475 g Na_3PO_4 (65,22 ccm n/10-HCl)	
	5h 55′—6h 19′		1232,0	19,76	28,55	—	424,5	—	26,45	0,692	+ 13,6 ccm 5% Na_3PO_4 = 63,1 ccm 5% Na_3PO_4 = 3,155 g Na_3PO_4 (83,11 ccm n/10-HCl)	
17	9. VII. 1912 5h 35′ p.m.–5h 58′	3,200	973,5	25,99	34,90	49	—	19,80	34,90	0,744		Vorversuch.
	6h 17′—6h 55′		1116,1	18,58	29,96	38	142,6	29,40	29,26	0,620	35,6 ccm 10% Na_3PO_4 = 3,56 g Na_3PO_4 (93,63 ccm n/10-HCl)	
	7h 56′—8h 51′		966,9	16,63	27,44	35	—	27,60	27,44	0,606	+ 14,4 ccm 10% Na_3PO_4 = 50,0 ccm 10% Na_3PO_4 = 5 g Na_3PO_4 (131,5 ccm n/10-HCl)	
18	16. VII. 1912 4h 36′ p.m.—5h 8′	3,600	875,5	27,36	35,65	35	—	25,00	35,65	0,767		Vorversuch.
	5h 41′—6h 33′		1030,0	21,23	30,28	43	154,5	23,95	29,48	0,701	38 ccm 10% Na_3PO_4 = 3,8 g Na_3PO_4 (99,94 ccm n/10-HCl)	Nach weiterer Zufuhr von 9,3 ccm 10% Na_3PO_4 Exitus. Kaninchen hat während des ganzen Versuchs nicht uriniert.

Tabelle III (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
19	5. II. 1913 $6^h 4'$ p.m.—$6^h 43'$	3,000	600,0	16,80	19,03	40	—	15,00	19,03	0,883		Vorversuch.
	$7^h 56'$—$8^h 39'$		714,8	10,86	16,15	70	114,8	10,21	15,65	0,672	33,7 ccm 10% Na_3PO_4 = 3,37 g Na_3PO_4 (88,63 ccm $^n/_{10}$-HCl)	
	$8^h 45'$—$9^h 20'$		843,5	13,62	18,34	—	243,5	—	17,04	0,742	+ 3,4 ccm 10% Na_3PO_4 = 37,1 ccm 10% Na_3PO_4 = 3,71 g Na_3PO_4 (97,57 ccm $^n/_{10}$-HCl)	
20	25. III. 1913 $4^h 41'$ p.m.—$5^h 29' 30''$	2,700	417,0	18,22	27,15	64	—	6,51	27,15	0,671		Vorversuch.
	$6^h 24'$—$7^h 29'$		482,4	19,87	29,54	67	65,4	7,20	29,24	0,673	37,7 ccm $^n/_4$-NaOH = 0,377 g NaOH (94,25 ccm $^n/_{10}$-HCl)	Nach weiterer Zufuhr von 31,8 ccm $^n/_4$-NaOH Exitus.
21	8. IV. 1913 $4^h 39'$ p.m.—$5^h 5'$	2,900	799,7	21,75	29,27	35	—	22,85	29,27	0,743		Vorversuch.
	$5^h 55' 30''$—$6^h 23' 30''$		1130,0	26,89	46,80	46	330,3	24,60	45,10	0,575	47,5 ccm $^n/_3$-NaOH = 0,646 g NaOH (158,3 ccm $^n/_{10}$-HCl)	
	$6^h 34' 35''$—$7^h 2' 35''$											
	$7^h 8' 30''$—$7^h 37' 30''$		1080,0	18,47	28,22	—	280,3	—	26,82	0,654	+ 57,8 ccm $^n/_3$-NaOH = 105,3 ccm $^n/_3$-NaOH = 1,432 g NaOH (351 ccm $^n/_{10}$-HCl)	

Tabelle IV.

Versuch Nr.	Datum und Dauer des Versuches	Gewicht kg	Atemvolumen (pro Minute reduziert) ccm	CO_2-Ausscheidung pro Minute ccm	O_2-Verbrauch pro Minute ccm	Atemfrequenz pro Minute	Mehrventilation pro Minute ccm	Atemtiefe (pro Atemzug geatmete Luft) ccm	Red. O_2-Verbr. (für 100 ccm Mehrventilat. 0,5 ccm O_2 abgezogen) ccm	Resp. Quot.	Infusionsflüssigkeit	Bemerkungen
22	26. X. 1912 6h 8′ p.m.—6h 35′	2,500	819,8	25,78	31,05	36	—	22,77	31,05	0,830		Vorversuch.
	7h 19′—7h 52′		950,8	21,58	29,57	42	131,0	22,64	28,87	0,729	27,8 ccm 4% NaCl = 1,112 g NaCl	
	8h 9′—8h 43′		927,0	20,86	30,04	40	107,2	23,17	29,54	0,694	+ 43,3 ccm 4% NaCl = 71,1 ccm 4% NaCl = 2,844 g NaCl	
	10h 46′—12h 49′		440,6	10,28	13,98	36	—	12,24	13,98	0,735		+ 78,5 ccm 4% NaCl (zwischen 3. u. 4. Vers.) = 149,6 ccm 4% NaCl = 5,984 g NaCl.
23	6. XI. 1912 5h 3′ p.m.—5h 39′	2,300	616,5	15,57	22,50	48	—	12,84	22,50	0,692		Vorversuch.
	6h 15′—7h 15′		529,2	9,366	14,95	52	—	10,20	14,95	0,626	63,5 ccm 4% NaCl = 2,54 g NaCl	Kaninchen hat während des ganzen Versuchs nicht uriniert.
24	20. XI. 1912 4h 8′ p.m.—4h 36′	3,100	721,8	18,77	25,84	70	—	10,31	25,84	0,726		Vorversuch.
	5h 30′—6h 10′		765,8	18,30	25,81	68	44,0	11,26	25,56	0,709	45,4 ccm 4% NaCl = 1,82 g NaCl	
	6h 18′—6h 60′		813,2	20,21	26,47	72	91,4	11,29	26,00	0,763	+ 25,0 ccm 4% NaCl = 70,5 ccm 4% NaCl = 2,82 g NaCl	

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XVII.

Das optische Drehungsvermögen der Proteinsalze[1]).

Von

Wolfgang Pauli und **Max Samec** zum Teile nach Versuchen mit **Erwin Strauß.**

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 20. November 1913.)

Mit 12 Figuren im Text.

Es ist schon bei den älteren Untersuchungen des optischen Drehungsvermögens von Eiweißkörpern aufgefallen, daß dasselbe durch Veränderung des Lösungsmittels, insbesondere aber durch Zusatz von Säuren und Basen, nicht unbedeutende Größenänderungen erfährt. Eine systematische Untersuchung der Drehungsbeeinflussung von genuinen Proteinen durch Säuren, Basen und Salze von modernen physikalisch-chemischen Gesichtspunkten aus liegt jedoch nicht vor. Wohl finden sich vereinzelte Angaben darüber, daß wie bei den Aminosäuren so auch bei den Eiweißkörpern die Salze ein anderes Drehungsvermögen besitzen als die genuinen Proteine, doch enthalten diese Angaben viele Widersprüche.

---

[1]) Eine vorläufige Mitteilung unserer Versuchsergebnisse wurde am 30. Juli 1910 der Kais. Akademie der Wissenschaften vorgelegt (Akademie-Anzeiger Nr. XVII, 1910; vgl. auch Kolloidzeitschr. 12, 222). Von einer ausführlichen Veröffentlichung wurde durch fast 4 Jahre abgesehen, bis der Fortschritt der Arbeiten am Institute, insbesondere über Hydrolyse und Neutralisationsvorgänge bei den Proteinsalzen, ein besseres Verständnis ihres optischen Verhaltens angebahnt hat. Herr Ing. Erwin Strauß hat sich der großen Mühe unterzogen, unsere sämtlichen früheren Resultate mit den uns heute verfügbaren vollkommeneren Apparaten zu wiederholen, wofür wir ihm wärmstens danken.

So fand schon F. Hoppe-Seyler[1]) die spezifische Drehung von Casein in neutraler Lösung $[\alpha]_D = -80°$, in stark alkalischer $[\alpha]_D = -91°$, dagegen merkwürdigerweise in schwach alkalischer $[\alpha]_D = -76°$. C. Borkel[2]) gibt für Fibrinpepton (mittels Pepsin gewonnen) in Wasser $[\alpha]_D = -36{,}36°$, in 12,5%igem Ammoniak $[\alpha]_D = 39{,}42°$ an. K. Bülow[3]) stellte auf dem Wege über Kupferalbuminat verschiedene sog. salzfreie Eiweißkörper her, die sämtlich denaturiert und wasserunlöslich waren. Sie zeigten in saurer und alkalischer Lösung eine verschiedene spezifische Drehung, allein die Werte sind so unübersichtlich, daß der Autor auf spezielle Schlußfolgerungen verzichtet. Von F. Framm[4]) stammt eine systematische Untersuchung über die Drehungsbeeinflussung einer allerdings unreinen Glutose (das durch tagelanges Erhitzen von Glutin gewonnene β-Glutin) durch verschiedene Zusätze von Säuren, Basen und Salzen. Sämtliche untersuchten Elektrolyte bewirkten starke Herabsetzung der optischen Drehung, die bei Säuren und Laugen eine bleibende, bei Alkalisalzen eine umkehrbare war. Diese Versuche sind noch mit einem Wildschen Polarisationsapparate gemacht und bedürften wegen ihrer Sonderstellung einer neuerlichen, kritischen Bearbeitung mit vollkommenerer Methode.

Die systematischen Arbeiten der letzten Jahre über das physikalisch-chemische Verhalten der Eiweißkörper[5]) legten es nahe, mit den dabei erworbenen Kenntnissen die Frage nach dem Zusammenhang von optischer Drehung und dem physikalisch-chemischen Zustand der Proteine und ihrer Salze in Lösungen nunmehr einer eingehenden Untersuchung zu unterziehen, worüber im folgenden berichtet werden soll. Dabei wurde vorerst die streng tatsächliche Feststellung und Vergleichung des Materials angestrebt, während dasselbe bei dem gegenwärtigen Stande sowohl der Lehre von der Eiweißkonstitution als auch vom Konstitutionszusammenhang mit optischer Drehung einstweilen nur mit großer Reserve nach der theoretischen Seite diskutiert werden konnte.

Zunächst seien die allgemeinen Ergebnisse unserer Untersuchung vorausgeschickt. Die experimentellen Belege sind dann in einem weiteren Abschnitte zusammengefaßt.

---

[1]) F. Hoppe-Seyler, Thierfelder, Handb. d. physiol. u. pathol. Chem. 1909.

[2]) C. Borkel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 289, 1903.

[3]) K. Bülow, Arch. f. d. ges. Physiol. 58, 207, 1894.

[4]) F. Framm, ebenda 68, 144, 1897.

[5]) Bezüglich Literatur siehe Pauli, Die kolloiden Zustandsänderungen der Eiweißkörper. Fortschr. d. naturwissensch. Forschung 4, 223, 1912, und P. Rona, Handb. d. Biochemie 1913, Ergänzungsbd.

I. Übersicht der Ergebnisse.

Ein salzfreies natives Albumin erfährt durch Neutralsalzzusatz keine Änderung des Drehungsvermögens, ebensowenig durch ein steigend saures Acetat-Essigsäure-Puffergemisch bis zum isoelektrischen Punkte. Durch die verschiedenen Pufferlösungen wird aber das Verhältnis der nativen Eiweißionen zu den Neutralteilen — die Zahl der letzteren erreicht im isoelektrischen Punkte ein Maximum (L. Michaelis) — stark verschoben. Es sind also Veränderungen im Ionisationszustande der nativen Polyaminosäuren im Gegensatze zur Viscosität und Alkoholkoagulierbarkeit[1]) für das Drehungsvermögen unerheblich.

Durch Säurezusatz wird das Drehungsvermögen bis zu einem Maximum gesteigert, das im Überschuß der Säure, solange Proteolyse ausgeschlossen ist, konstant bleibt. Dieses Maximum entspricht in seiner Lage jener Konzentration zugesetzter Säure, bei der ein Viscositätsmaximum bzw. ein Minimum der Alkoholkoagulierbarkeit beobachtet wird. Zugleich fällt dieser Punkt mit dem elektrometrisch bzw. elektrophoretisch nachweisbaren Ionisationsmaximum des Säureeiweißes zusammen. Während jedoch ein weiteres Ansteigen der Säurekonzentration Zurückdrängung der Ionisation des Eiweißsalzes und damit Abfall der Viscosität und Elektrophorese sowie Wiederauftreten der Alkoholkoagulierbarkeit bedingt, bleibt die optische Drehung unter diesen Verhältnissen konstant. Es ist also lediglich die Bindung der Säure und die dadurch gegebene Bildung des Eiweißsalzes, nicht aber dessen Ionisationszustand für die optische Drehung maßgebend. Damit stimmt überein, daß die Kurve der optischen Drehung (Fig. 5) mit der elektrometrisch aufgenommenen Kurve der Wasserstoffionenbindung zusammenfällt. Denn auch die Wasserstoffionenbindung bleibt nach erreichtem Maximum bei weiterem Säurezusatz praktisch unverändert.

Verschiedene Säuren zeigen das gleiche allgemeine Verhalten hinsichtlich des Auftretens einer Drehungssteigerung und eines konstanten Maximums. Dagegen ist das Ausmaß der Drehungssteigerung des Säurealbumins von der Natur der Säure in ähnlicher charakteristischer Weise abhängig wie die Viscosität des Eiweißes,

[1]) Kolloid-Zeitschr. 12, 222, 1913.

indem hier nicht die Stärke der Säure, sondern die Natur des Anions in spezifischer Weise maßgebend ist. Die sehr starke Trichloressigsäure liegt in ihrer Wirkung auf das Drehungsvermögen tief unter der gleich starken Salzsäure und wird darin von der schwächeren Oxalsäure und Monochloressigsäure bedeutend übertroffen, während Schwefelsäure und Trichloressigsäure einander sehr nahe liegen. Der Vergleich der Reibungs- und Drehungsdiagramme bei verschiedenen Säuren läßt den hier vorhandenen Parallelismus schlagend hervortreten (Fig. 3 und 4).

Wie die Säure bewirkt auch zugesetzte Lauge eine Drehungssteigerung, wobei sich analog dem Verhalten der Viscosität von Laugenproteinen die Laugen im allgemeinen in ihrer Wirkung auf die optische Rotation nach ihrer Stärke ordnen. Über dieses Verhalten orientiert Fig. 7.

Neutralsalzzusatz zum Säureeiweiß bedingt eine Depression des Drehungsvermögens, die ebenfalls in deutlicher Beziehung zum Verhalten von Viscosität der gleichen Lösung steht. Für diese Depression ist in beiden Fällen in erster Linie das Anion maßgebend: $SO_4 > Cl$, während Alkalien und Erdalkalien mit dem gleichen Anion nahezu gleich wirken. In früheren Untersuchungen wurde ein ähnlicher Einfluß der Neutralsalze auf die Koagulationstemperatur des Säureeiweißes und auf die Alkoholfällbarkeit konstatiert. Dagegen fand sich beim Alkalieiweiß wiederum in Übereinstimmung mit dem Verhalten der Koagulationstemperatur keine merkliche Änderung des Drehungsvermögens durch die Neutralsalze der Alkalien, während Erdalkalien nahezu unabhängig vom Anion im Sinne einer Depression der Drehung wirksam sind. Die Einwirkung der Neutralsalze wurde bisher als Bildung höherer Komplexsalze aufgefaßt, eine Anschauung, der sich auch die Beobachtungen im polarisierten Licht unterordnen lassen. (Fig. 8, 9, 10.)

In hohem Maße bemerkenswert war der Einfluß von Coffein und Theophyllin auf die Drehung des Säureeiweißes. W. Pauli und O. Falek[1]) hatten in einer früheren Arbeit gezeigt, daß die durch Zusatz dieser methylierten Xanthine zum Säureeiweiß bewirkte Steigerung der Viscosität nicht auf einer Mehr-

[1]) W. Pauli und O. Falek, diese Zeitschr. 47, 269, 1912.

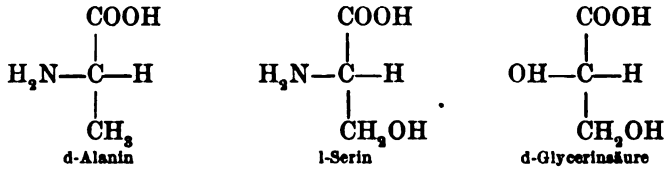
bindung von Wasserstoffionen, sondern wahrscheinlich auf der Entstehung eines komplexen Coffein- (Theophyllin-) Albuminchlorids von größerer Hydratation der neuen Ionen beruht. Unsere Versuche ergeben nun, daß diesem Komplexsalz auch eine stärkere optische Rotation zukommt, die jedoch im Gegensatze zur Viscosität, ebenso wie bei den einfachen Eiweißsalzen, von der Dissoziation des Salzes nur wenig abhängig erscheint. Denn auch hier zeigt sich nach einem mäßigen Rückgang Konstanz im weiteren Überschusse der Säure. Wie bei der Erhöhung der Viscosität, so ist auch hinsichtlich der Drehungssteigerung des Säureeiweißes das Coffein dem Theophyllin überlegen. Im einzelnen bedarf diese höchst interessante Kombination gewisser Purinkörper mit Eiweißsalzen noch weiterer Aufklärung. (Fig. 11.)

Einige Versuche mit amphoteren Elektrolyten, wie Kakodylsäure, Amidobenzoesäure und Thioharnstoff, ergaben in niederen Konzentrationen geringe Depression, in höheren einen geringen Anstieg der Drehung. Doch sind diese Einflüsse, die einen gewissen Parallelismus zum Verhalten der Viscosität der betreffenden Eiweiß-Ampholytgemische zeigen, recht geringfügig.

In anderer Richtung wird noch auf die Frage nach dem Zusammenhange zwischen Ionisations- und Hydratationsänderung des Proteins einerseits und Änderung der optischen Drehung andererseits Licht geworfen durch die Versuche an einem sorgfältig gereinigten Glutin. Während gerade dieser Eiweißkörper bei Säure- und Laugenzusatz, erkennbar an Quellung und Reibung, die bedeutendste Erhöhung der Hydratation erfährt, findet sich parallel nur eine sehr geringe Drehungsänderung.

Von einer restlosen konstitutionschemischen Aufklärung des hier beschriebenen Phänomens, einer erheblichen Steigerung des optischen Drehungsvermögens von Eiweißkörpern bei der Salzbildung mit Säuren und Basen, sind wir gegenwärtig noch weit entfernt. Fehlt uns doch zur Zeit selbst in den einfachsten Fällen die Möglichkeit, bei Kenntnis der Struktur eines Stoffes mit asymmetrischem Kohlenstoffatom aus dieser auf den Betrag der optischen Drehung zu schließen, und ebensowenig wissen wir im gegebenen Falle voraus, welche der beiden möglichen Formen nach rechts und welche nach links dreht. Noch weniger sind wir imstande, vorherzusagen, in welchem Sinne und Maße

das optische Drehungsvermögen beeinflußt wird, wenn, wie beim Eiweiß, eine ganze Reihe verschiedener optisch-aktiver Glieder zum Teile wohl in ungleichen Abständen zu einer Kette zusammentritt. Dazu kommt hier, daß derzeit nicht einmal bei den höheren Aminosäuren des Eiweißes eine genetische Klarstellung der sterischen Konfiguration vorhanden ist. Eine solche wurde vorläufig erst für d-Alanin, l-Serin und das damit zusammenhängende Cystein von Emil Fischer, bezogen auf Traubenzucker, gegeben, wie die folgenden, der Arbeit von E. Fischer und K. Raske[1]) entnommenen, Formelbilder dartun. Zum Vergleiche ist die Konfiguration der vermittelnden Glycerinsäure daneben gestellt.



Unsere Versuche betreffen nun den Drehungsunterschied zwischen Salzen auf der einen und freier Säure oder Base auf der anderen Seite, welch letztere beide beim amphoteren Protein nach dem Verhalten im isoelektrischen Gebiet ohne Fehler als optisch gleichwertig angesehen werden können. Da es sich hier um Salze einer relativ schwachen Säure oder Base handelt, so ist in diesem Falle ein Zusammenhang mit der allgemeinen Frage nach der Beziehung zwischen Ionisation und optischer Drehung gegeben.

Naturgemäß haben die systematischen Arbeiten über dieses wichtige Problem erst mit der fortschreitenden Entwicklung der Lehre von Arrhenius eingesetzt. Als ein gesichertes Ergebnis der bisherigen Untersuchungen dürfen wir die Feststellung betrachten, daß die neutralen Teile und die Ionen optisch-aktiver Elektrolyte sehr häufig ein verschiedenes Drehungsvermögen aufweisen. Dadurch treten in geeigneten Fällen gesetzmäßige Beziehungen zwischen der optischen Drehung und dem Dissoziationszustande der betreffenden Säuren, Basen oder Salze hervor.

---

[1]) E. Fischer und K. Raske, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40. 3718, 1907.

So konnte H. Hädrich[1]) ungezwungen eine Reihe bis dahin unverstandener Erfahrungen, wie das Oudemanssche Gesetz der Unabhängigkeit der Drehung äquivalenter Salzkonzentrationen desselben Alkaloids von der Natur der Säure aufklären. P. Walden[2]) zeigte dann an der α-Bromcampher-sulfosäure, daß starke, optisch-aktive Säuren bei entsprechender Verdünnung die gleiche Rotation aufweisen, wie die äquivalenten Lösungen ihrer Salze. E. Rimbach[3]) konnte schließlich an passenden Beispielen eine gute Übereinstimmung der Werte von mittels der optischen Drehung und mittels elektrischer Leitfähigkeit bestimmten Dissoziationsgraden dartun. Das Drehungsvermögen der nicht dissoziierten Salzmolekeln kann kleiner (Chinin-, Morphinsalze u. a.) oder größer sein (Brucinsalze) als das der Ionen.

Auch an Salzen von Aminosäuren liegen Beobachtungen über verschiedene Drehung von Ionen und Neutralteilen vor. So fand Gulewitsch[4]) eine bedeutende Erhöhung der optischen Drehung des Argininchlorids durch Zusatz von Salzsäure, hingegen durch Zusatz von Bariumhydroxyd eine merkliche Herabdrückung derselben. Dieses Verhalten wird aus der Veränderung der hydrolytischen Dissoziation des Argininsalzes erklärt. Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Histidin. Nach A. Kossel und F. Kutscher[5]) steigert Zusatz von Salzsäure zum Mono- und Dichlorid des Histidins gleichfalls die Drehung, was von diesen Autoren ebenfalls auf die Verminderung der hydrolytischen Dissoziation zurückgeführt wird. Die freie Base dreht hier nicht bloß wie beim Arginin schwächer, sondern wie beim Nicotin entgegengesetzt wie die Salze. In ähnlicher Weise hat schon früher Hädrich das scheinbar anomale optische Verhalten der sauren Chinaalkaloide auf ihre hydrolytische Dissoziation bezogen.

Anscheinend liegen bei den Aminosäuren keine sonstigen Versuche vor, einen theoretischen Zusammenhang zwischen der optischen Rotation und den übrigen physikalisch-chemischen Eigenschaften ihrer Salze herzustellen, da die vorhandenen zahlreichen Bestimmungen des optischen Drehungsvermögens in dieser Körperklasse so gut wie ausschließlich Zwecken der chemischen Identifizierung dienen sollten. Auch in den weiteren Beispielen tritt als Regel der Unterschied im optischen

[1]) H. Hädrich, Zeitschr. f. physikal. Chem. **12**, 476, 1893.

[2]) P. Walden, ebenda **15**, 196, 1894.

[3]) E. Rimbach, ebenda **16**, 671, 1895.

[4]) W. Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **27**, 178, 368, 1899.

[5]) A. Kossel und F. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **28**, 382, 1899. Vgl. auch für Asparagin Schenk und Kreichgauer, Sitzungsber. d. Ges. Naturw. Marburg 1909.

Verhalten der Aminosäuren und ihrer Salze zutage. Eine Ausnahme davon bildet vielleicht das d-Alanin, dessen Drehung E. Fischer[1]) ebenso wie die des Chlorids mit $[\alpha]_D^{20°} = +10{,}3°$ bestimmte. Dazu bemerkt der Autor: „Ein mäßiger Überschuß von Salzsäure verändert die spezifische Drehung kaum." Das d-Alanyl-d-Alanin [E. Fischer[2])] — ein guter Beleg für das Auftreten unerwarteter Ergebnisse schon bei relativ einfachen Kombinationen optisch-aktiver Stoffe — dreht etwas mehr als doppelt so stark nach links als das d-Alanin nach rechts, mit $[\alpha]_D^{20°} = -21{,}6°$. Das d-Phenylalanin [E. Fischer, F. Ehrlich[3])] besitzt in wässeriger Lösung ein $[\alpha]_D^{20°} = +35{,}08°$ (34,56°), in salzsaurer ein $[\alpha]_D^{20°} = +7{,}07°$ (6,86°). Hier dreht das Salz bedeutend schwächer als die Aminosäure.

Das natürliche l-Leucin, aus verschiedenen Eiweißkörpern gewonnen, dreht in wässeriger Lösung nach F. Ehrlich und A. Wendel[4]) im Mittel mit $[\alpha]_D^{20°} = -10{,}6°$, dagegen in salzsaurer (20% HCl) nach rechts mit $[\alpha]_D^{20°} = +15{,}6°$. Das von F. Ehrlich (l. c.) zuerst dargestellte Isoleucin zeigt in wässeriger Lösung ein $[\alpha]_D^{20°} = +9{,}70°$, in Salzsäure (20%) $[\alpha]_D^{20°} = +36{,}8°$. Näherer Untersuchung bedarf noch das Verhalten des l-Tyrosins, dessen spezifische Drehung nach E. Schulze und E. Winterstein[5]) in 4% HCl ein Maximum mit $[\alpha]_D^{20°} = -16{,}4°$ zeigt, während sie E. Fischer[6]) in 21% HCl mit $[\alpha]_D^{20°} = -8{,}64°$ bestimmte. Die Asparaginsäure besitzt in ihrer natürlichen l-Form in wässeriger und alkalischer Lösung schwache Linksdrehung, in starker Salzsäure dagegen Rechtsdrehung, nämlich $[\alpha]_D = +25{,}7°$. Das l-Tryptophan, dessen Drehungsvermögen in wässeriger Lösung stark schwankt, wird in Säure oder Alkali schwach rechtsdrehend [H. Fischer[7])]. Auf das ähnliche Verhalten des Histidins wurde oben schon hingewiesen. Nach diesen Beispielen, die auf Vollständigkeit keinen Anspruch machen, weist die Drehung beim Übergange von Aminosäuren zu ihren Salzen die denkbar größte Mannigfaltigkeit auf.

Mit den eben angeführten Beobachtungen an Aminosäuren stehen jedoch unsere Erfahrungen an genuinen Proteinen vorläufig nur in einem losen Zusammenhang, indem wir auch bei Proteinen ein verschiedenes Drehungsvermögen der nativen Eiweißstoffe und ihrer Salze konstatieren können. Als Grundlage für diesen Unterschied kann hier unter keinen Umständen die Verschiedenheit des Ionisationsgrades angesehen werden.

[1]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 464, 1906.

[2]) l. c. S. 466.

[3]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. **8**, 444, 1908.

[4]) F. Ehrlich und A. Wendel, ebenda **8**, 414, 1908.

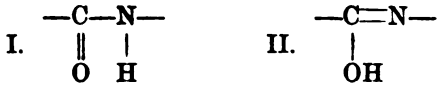
[5]) E. Schulze und E. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. **35**, 299, 1902; **45**, 38, 1905.

[6]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **32**, 3638, 1899.

[7]) H. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**, 74, 1908.

Das geht aus dem Verhalten der optischen Drehung von Eiweiß sowohl im isoelektrischen Gebiet, als auch im Überschuß von Säure oder Alkali[1]) eindeutig hervor. Vielmehr ist, wie schon hervorgehoben, lediglich der Vorgang der Bindung von Säure oder Lauge als wesentliches Moment für die Drehungssteigerung des Proteins anzusehen. Die Grenze dieses Vorganges ist durch ein Drehungsmaximum angezeigt.

Wir wissen nun aus neueren Arbeiten am hiesigen Institut, die desamidierten Eiweißkörper betreffend (J. Matula und L. Blasel), daß die Bindung von Säure nicht nur an endständigen Aminogruppen, sondern wahrscheinlich überwiegend am binnenständigen Iminostickstoff der Peptidbindung erfolgt. Ähnliches könnte mutatis mutandis für die Carboxylgruppen bei der Laugenbindung gelten. Auf diese Möglichkeit hat — in allgemeinster Form — schon T. B. Robertson[2]) hingewiesen und zugleich eine Umlagerung in der Peptidbindung nach dem folgenden Schema angenommen:



Ein experimenteller Hinweis auf Tautomerie in der Peptidbindung ist bereits, wie wir hervorheben möchten, im Jahre 1907 von H. Leuchs und W. Manasse[3]) in dem Falle der Glycylglycincarbonsäure erbracht worden, deren zwei strukturisomere Ester E. Fischer schon 1903 hergestellt hatte. M. Siegfried[4]) hatte ferner den vollständig negativen Ausfall seiner Carbaminoreaktion bei der Glykoalbumose auf das Vorhandensein der

[1]) Dagegen gibt es auf anderem Gebiete Beispiele, in denen die Drehungsänderung bei Ionisationszurückdrängung zu ähnlichen Kurven führt, wie sie etwa die innere Reibung des Salzsäurealbumins bei steigendem Säuregehalt aufweist. So fand Oudemans, daß die Drehung gewisser mehrsäueriger Alkaloide (z. B. Cinchonin) bei Zusatz starker Säuren bis zu einem Maximum ansteigt, um im Säureüberschuß wieder abzufallen. (Literatur s. H. Landolt, Das optische Drehungsvermögen usw. 2. Aufl. 1898, S. 198.)

[2]) T. B. Robertson, Physikalische Chemie der Proteine. Dresden 1912. Vgl. dazu die Besprechung von Pauli, Kolloid-Zeitschr. **10**, 58 bis 60, 1912, sowie S. P. L. Sörensen, Ergebn. d. Physiol. **12**, 479, 1912. Näheres in unseren folgenden Abhandlungen.

[3]) H. Leuchs und W. Manasse, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **40**, 3235, 1907.

[4]) M. Siegfried, Ergebn. d. Physiol. **9**, 344, 1910.

Enolform der Peptidbindung zurückzuführen versucht, da sonst etwa vier Peptidbindungen quantitativ die Carbaminoreaktion einer endständigen Aminogruppe geben.

T. B. Robertson neigt zu der, allerdings experimentell nicht gestützten Ansicht, daß die Enolform (II) den regulären Bindungstypus von den genuinen Proteinen bis zu den einfachsten Polypeptiden bilde. Es wäre danach schon dem Glycylglycin die Formel

$$NH_2.CH_2.C(OH)=N.CH_2.COOH$$

zuzuschreiben. Die Annahme dieser desmotropen Umlagerung wird nun von demselben Autor zu einer Hypothese der Proteinsalzbildung erweitert, die an der Stelle der Peptidbindung nach den folgenden Schemen stattfinden soll:

$$\begin{array}{l} \ldots\ldots OH-\underset{|}{C}=\underset{|}{N}\ldots. + NaOH = \ldots. \underset{|}{CONa^{++}} + \ldots. \overset{H}{\underset{OH}{\overset{|}{\underset{|}{N''-}}}} \end{array} \quad (1)$$

und

$$\begin{array}{l} \ldots\ldots OH-\underset{|}{C}=\underset{|}{N}\ldots. + HCl = \ldots\ldots \underset{|}{COH^{++}} + \ldots. \overset{H}{\underset{Cl}{\overset{|}{\underset{|}{N''-}}}} \end{array} \quad (2)$$

Diese Hypothese der Proteinsalzbildung führt jedoch, wie sich zeigen läßt, zu Konsequenzen, die in direktem Widerspruch mit der Erfahrung stehen:

I. Eine jede, auch die geringste Einwirkung von Säure und Lauge in der Kälte müßte bei nachweisbarer Bindung einen Zerfall der Polyaminosäure an den Orten der Peptidbindung herbeiführen. Ein solcher konnte jedoch (ohne Fermente) bisher insbesondere bei schwacher Säure- oder Laugenwirkung chemisch nicht nachgewiesen werden. Wo aber ein solcher Eiweißabbau bei stärkerer Einwirkung chemisch faßbar wird, dort kommt es auch nach Emil Fischer zum Auftreten endständiger Amino- und Carboxylgruppen, worauf im Formelbilde Robertsons keine Rücksicht genommen ist. Diese Zunahme der endständigen Aminogruppen läßt sich leicht mittels der Formoltitration erweisen [S. P. L. Sörensen[1]), J. Christiansen[2])].

[1]) S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 7, 45, 1908.
[2]) J. Christiansen, ebenda 46, 63, 1912.

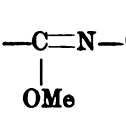
II. Ferner involviert Robertsons Hypothese ein Verschwinden der Metallionen bei zugesetzter Lauge oder der Anionen bei zugesetzter Säure unter gleichzeitigem Auftreten äquivalenter Mengen positiv und negativ geladener Proteinionen. Es ließ sich aber mittels der Elektrophorese für beide Fälle sowohl am denaturierten (W. B. Hardy), als auch am genuinen Eiweiß (W. Pauli) auch in neuen Versuchen mit höchst vollkommener Anordnung (W. Pauli und M. Samec) zeigen, daß bei Laugenproteinen nur freie negative, bei Säureproteinen nur freie elektropositive Eiweißionen auftreten. Außerdem konnte am Institute durch sorgfältige elektrometrische Messungen der H- und Cl-Ionen von K. Manabe (Tokio) und J. Matula[1]) für das Salzsäureprotein der direkte Nachweis erbracht werden, daß z. B. beim Glutin, trotz der Bindung nahezu des ganzen verfügbaren Wasserstoffs einer 0,02 n-HCl an das Protein, die Chlorionen freibleiben. Nach Robertsons Vorstellung müßte überdies einfache Elektrolyse der Proteinsalze unmittelbar die Zerfallsprodukte der Eiweißkörper liefern, eine fundamentale Erscheinung, die kaum der Beobachtung entgangen wäre.

Von diesen Bedenken bleibt jedoch Robertsons Verdienst unberührt, zuerst nachdrücklich die Möglichkeit einer Tautomerie in der Peptidbindung bei Proteinsalzen betont zu haben. Während man bisher den Angriff von Lauge oder Säure am Orte der säureamidartigen Verkettung nur für den Fall einer tiefgreifenden hydrolytischen Aufspaltung des Eiweißes in Betracht gezogen hatte, muß nach neueren Arbeiten am Institute mit desamidiertem Protein eine Bindung von Säure und wohl auch von Lauge an den Orten der Peptidverknüpfung, wie dies Robertson meint, allerdings nicht nach seinem Schema, sondern zunächst unter Erhaltung der Kette als im höchsten Grade wahrscheinlich angesehen werden.

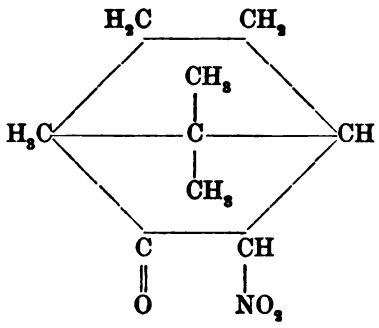
Betrachtet man in den optisch-aktiven Aminosäuren die Gruppen um das asymmetrische Kohlenstoffatom, so kann man feststellen, daß ein Radikal NH_2 und im Falle der Polypeptide, ein Iminostickstoff mit großer Regelmäßigkeit an das asymmetrische Kohlenstoffatom geknüpft erscheint. Damit wird aber unserem Verständnisse nähergebracht, daß Umlagerungen (Al-

[1]) K. Manabe und J. Matula, diese Zeitschr. 52, 369, 1913.

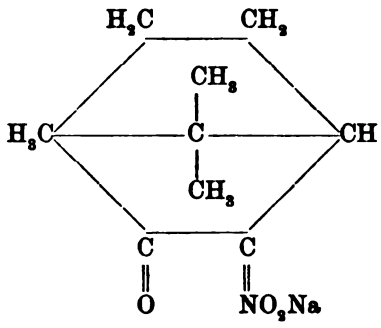
kaliwirkung), oder Auftreten von Valenzwechsel (Säureaddition) an diesem Stickstoff im Sinne A. Werners, wie sie bei der Proteinsalzbildung wahrscheinlich sind, unter Umständen von starken Änderungen der optischen Aktivität begleitet sein werden.

Bei der Gleichartigkeit der Drehungsänderung sowohl infolge von Säure- als auch von Laugenbindung ans Protein wird man zunächst eher geneigt sein auf einen beiden Fällen gemeinsamen Vorgang als Ursache der Drehungssteigerung zu schließen. In diesem Zusammenhange möchten wir darauf hinweisen, daß die Enolumlagerung in der Peptidverkettung den Übergang aus einer gesättigten in ungesättigte Bindung[1]) an einem mit dem asymmetrischen Kohlenstoffatom verbundenen Radikal darstellen kann, z. B.  . Die ungesättigten Verbindungen haben aber im allgemeinen ein beträchtlich höheres optisches Drehungsvermögen als die gesättigten. Von den vielen hier bekannten Beispielen[2]) sei nur eines wegen einer gewissen Verwandtschaft mit unserem Falle angeführt, die Drehungssteigung der Nitrocamphersalze.

Nitrocampher
$(\alpha)_D = -140^0$



Natriumsalz des Nitrocamphers
$(\alpha)_D = +298^0$



[1]) Allerdings wird zugleich die doppelte Bindung C=O in eine einfache verwandelt und dieser Bindungswechsel müßte an Bedeutung für das asymmetrische Kohlenstoffatom gegenüber dem Entstehen der Lückenbindung C=N zurücktreten.

[2]) A. Werner, Lehrbuch d. Stereochemie 1904, S. 135, 136 das. Literatur.

Neben der Entstehung einer ungesättigten Gruppe in wirksamer Nähe des asymmetrischen Kohlenstoffatoms wird noch das Auftreten von Ringschließung bei der Säure- oder Laugenneutralisation durch Protein als drehungssteigernder Faktor zu erörtern sein. Eine solche Ringschlußwirkung könnte nach Analogien mit Aminosäuresalzen (H. Ley) z. B. durch die Verknüpfung der eintretenden Metallatome an den Stickstoff des NH_2 oder Peptid-N mittels Nebenvalenzen ausgeübt werden.

Für die im Vergleich mit dem Albumin auffallend geringe Drehungsänderung des Glutins bei Laugen- und Säurebindung könnte der reiche Gehalt des Leimes an dem optisch inaktiven Glykokoll nicht ohne Bedeutung sein, das dem nur aus optisch aktiven Aminosäuren aufgebauten Albumin fehlt.

Schließlich wären auch bei den einfachen α-Aminosäuren, bei denen die Möglichkeit einer Entstehung zyklischer einfacher und doppelter Anhydride gegeben ist, Fälle denkbar, wo die Wirkung von höheren Säure- (oder Laugen-)Konzentrationen auf das optische Drehungsvermögen, der von uns an genuinen Proteinen bei geringen Säure- oder Laugenzugaben beobachteten, wesensverwandt sein könnte.

Eine Beziehung unserer Beobachtungen zu der sog. Waldenschen Umkehrung vermögen wir in den bisherigen Ergebnissen nicht festzustellen. Es wurden Versuche über die Reversibilität der Drehungsänderung durch nachträgliche Trennung der Säuren und Alkalien vom Albumin mittels Dialyse sowie mit exakter Neutralisation ausgeführt, welche die glatte Wiederherstellung der Ausgangsdrehung ergaben.

II. Experimenteller Teil.

Zur Bestimmung der optischen Drehung diente ein neuer Lippichscher Halbschattenapparat mit 2-dm-Röhren. Als Lichtquelle wurde mit vorzüglichem Erfolg die Beckmannsche Natriumlampe verwendet. Die zur Untersuchung gebrachten Eiweißlösungen waren durch 6wöchentliche Dialyse und Ablagern salzfrei gemachte und geklärte Sera. Ein Teil der Messungen wurde an einem durch Halbsättigung von Serum mit Ammoniumsulfat gewonnenen und ebenso lange dialysierten Albumin vorgenommen. Dieses diente insbesondere zum Studium des Neutralsalzeinflusses und des Verhaltens von Eiweiß im iso-

elektrischen Gebiet. Zu den Versuchen am Glutin benutzten wir eine aufs sorgfältigste dialysierte gute Handelsgelatine (Goldmarke). Die Anfangskonzentration der Proteinlösungen betrug rd. 2% und wurde durch Zusatz gleicher Mengen Elektrolytlösung zumeist auf etwa 1% gebracht. In den Tabellen sind die normalen Endkonzentrationen der Elektrolyte in den optisch untersuchten Lösungen angegeben. Die Versuchstemperatur betrug, wo nichts anderes angegeben, durchschnittlich 18°.

Zunächst wurde festgestellt, daß der Zusatz von puren Neutralsalzen der Alkalien und Erdalkalien keinen erheblichen Einfluß auf die beobachtete Drehung α^0 ausübt. Darüber belehrt die folgende Tabelle I.

Tabelle I.

Rinderserum + Salz. Eiweißkonzentration = 1,07%. $\alpha = 102°$.

Konzentration der Salze	KCl 0,1 n	KNO_3 0,5 n	KCNS 0,5 n	$Ca(NO_3)_2$ 0,5 n
α^0	1,02	1,05	1,03	1,02

Der Ausgangspunkt für die Drehung von dialysierten Seren kann deshalb zur Vermeidung von Globulintrübungen auch ohne Fehler bei Neutralsalzzusatz bestimmt werden.

In einem folgenden Versuche wurde mittels variierter Wasserstoff-Ionenkonzentration der Einfluß der Ionisation des reinen Eiweißes (der Polyaminosäure) untersucht, indem die Ionisation des bekanntlich schwachsauren Eiweißes, durch Zusatz des Essigsäureacetatgemisches als Puffer, zunächst bis zum isoelektrischen Punkt herabgedrückt wurde. Dieser liegt nach Messungen von L. Michaelis, Pauli u. a. für das native Serumalbumin bei $2 \cdot 10^{-5}$ H.

Wie die folgenden Versuche zeigen, wird zum Unterschied von einer Reihe anderer Zustandsänderungen[1]) das optische Verhalten des Eiweißes im isoelektrischen Gebiet in einem weiten Bereiche nicht geändert. Als Puffer dienten Lösungen, in denen der Natriumacetatgehalt überall auf 0,05 n gehalten war, während die Menge der Essigsäure variierte (Tabelle II).

[1]) Vgl. W. Pauli, Kolloid-Zeitschr. 12, 222, 1913.

Tabelle II.

Puffer + Rinderalbumin (1 : 1). Eiweißkonzentration = 1,1 %.

Puffer	Na-Acetat / Essigsäure	H-Ionenkonzentration	α^0
I	1 : 6	$0{,}13 \cdot 10^{-3}$	1,15
II	1 : 4	$0{,}86 \cdot 10^{-4}$	1,16
III	1 : 2	$0{,}42 \cdot 10^{-4}$	1,15
IV	1 : 1	$0{,}21 \cdot 10^{-4}$	1,16
V	2 : 1	$0{,}11 \cdot 10^{-4}$	1,14
VI	4 : 1	$0{,}53 \cdot 10^{-5}$	1,14

Sobald man durch höheren Zusatz von Säuren das isoelektrische Gebiet verläßt und die Eiweißsalzbildung fortschreitet, kommt es, wie die folgenden Versuche zeigen, zu einer ganz bedeutenden Steigerung der Drehung, deren Maximum für eine 1 %ige Lösung sowohl von Rinderalbumin als auch von Pferde- oder Rinderserum in der Gegend von 0,02 n-HCl gelegen ist. Dieser Punkt entspricht ungefähr dem von W. Pauli und H. Handovsky gefundenen Reibungsmaximum von Salzsäureeiweiß und dem von K. Manabe und J. Matula bestimmten Bindungsmaximum der Wasserstoffionen.

Tabelle III.

Pferdeserum + Salzsäure. Anfangskonz. des Serums = 2,086 %.

Konzentration der Säure	0,05 n	0,04 n	0,02 n	0,01 n	0,005 n	0,1 n KCl
Verdünnung d. Pferdeserums auf 1/4 . . .	0,80	0,79—0,80	0,82	0,79	0,61	0,55
Verdünnung d. Pferdeserums auf 1/2 . . .	1,59	1,56	1,52	1,34	1,14	1,06
Verdünnung d. Pferdeserums auf 3/4 . . .	2,32	2,30	2,23	—	—	—

Tabelle IV.

Rinderserum + Salzsäure. Eiweißkonz. = 2,14 %.

Konzentration der Säure	0,05 n	0,04 n	0,02 n	0,01 n	0,005 n	0,1 n KCl
Serum verdünnt auf 1/4 .	0,75	0,74	0,75	0,74	0,68	0,59
„ „ „ 1/2 .	1,39	1,39	1,38	1,25	1,13	1,02
„ „ „ 3/4 .	2,07	2,07	2,03	1,78	1,62	1,50

Mit wechselndem Eiweißgehalt verschiebt sich die Lage des Maximums für eine 1,5 %ige Eiweißlösung gegen 0,03 n, für 0,5 %ige gegen 0,01 n. Über diese Verhältnisse belehren

die Kurven und Tabellen III und IV. Über das Maximum hinaus findet eine weitere Drehungsänderung nicht statt.

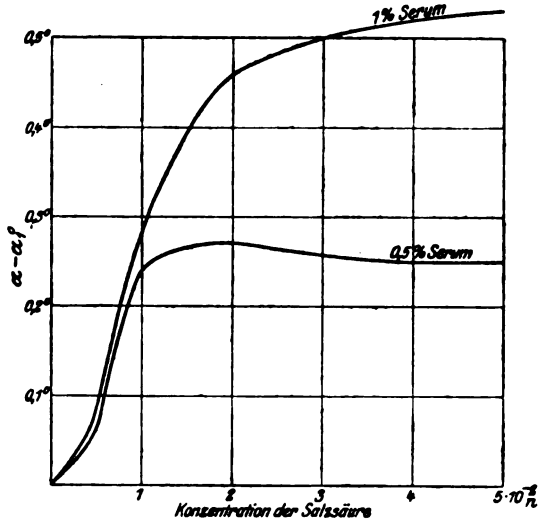


Fig. 1.

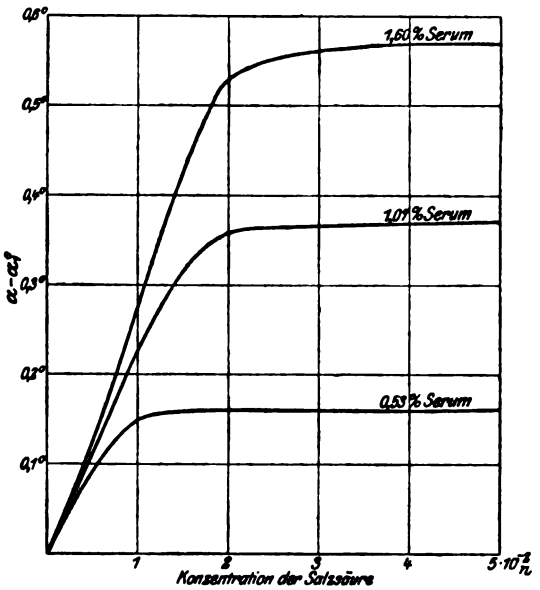


Fig. 2.

[1]) Bei vielen der folgenden Kurven verwendeten wir als Ordinaten die Differenz zwischen der opt. Drehung der Elektrolyteiweißlösung und der Ausgangslösung.

Die folgenden Versuche zeigen, daß ähnlich wie bei der Viscosität von Säureeiweiß nicht die Stärke der verwendeten Säuren, sondern die Eigenschaften des gebildeten Eiweißsalzes für die Drehung maßgebend sind. Während die Salzsäure einen bedeutenden Drehungsanstieg bewirkt, erzielt die gleichstarke Trichloressigsäure einen sehr geringen, der sich dem der Essigsäure nähert. Ferner erscheint die schwächere Oxalsäure der Schwefelsäure in der Wirkung auf die optische Drehung weit überlegen. Wie ein Blick auf die zum Vergleiche angeführten Viscositätskurven lehrt, finden sich in der Tat auch hier ähnliche Verhältnisse (Tabelle V, Fig. 3 und 4).

Tabelle V.

Rinderserum + Säure. Eiweißkonz. = 1,07%.

Konzentration der Säure	α^0 bei Zusatz von				
	Schwefelsäure	Oxalsäure	Essigsäure	Monochloressigsäure	Trichloressigsäure
0,05 n	1,19	1,34	1,08	1,22	1,08
0,04	1,17	1,30	1,08	1,20	1,08
0,02	1,12	1,18	1,04	1,18	1,07
0,01	1,09	1,12	1,03	1,13	1,05
0,005	1,07	1,06	1,02—1,03	1,07	1,04
0,0	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02

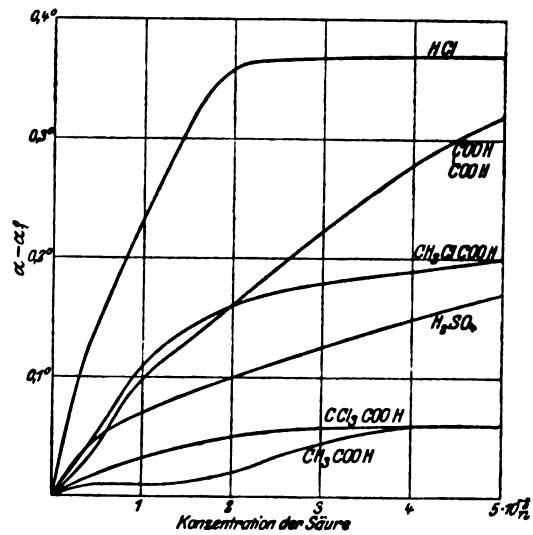


Fig. 3.

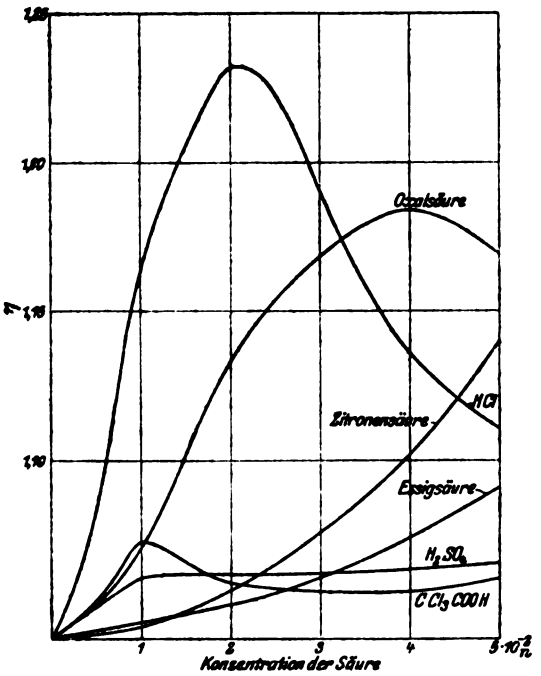


Fig. 4.

Nur in bezug auf die Bildung eines dem Maximum der Viscosität folgenden Abfalles bei steigender Säurekonzentration besteht ein prinzipieller Unterschied. Dieser Reibungsabfall im Überschuß der Säure muß nach den Untersuchungen am Institute auf Ionisationszurückdrängung durch die überschüssige Säure zurückgeführt werden. Konstruiert man aus elektrometrischen H'- und Cl'-Ionenkonzentrationsbestimmungen die Ionisationskurve des Salzsäureeiweißes, so findet man ihre Übereinstimmung mit der Reibungskurve. Dagegen fällt der Verlauf unserer Drehungskurve zusammen mit dem der Wasserstoffionenbindung an Eiweiß, die gleichfalls einem konstanten Maximum zustrebt. Im folgenden findet sich zum Vergleiche die Kurve der Wasserstoffionenbindung und die Drehungskurve von Eiweiß aufgetragen (Fig. 5).

Ähnlich wie Säure- bewirkt auch Alkalizusatz einen Drehungsanstieg bis zu einem Maximum. Über diese Verhältnisse belehrt die folgende Tabelle betreffend ein Rinderserum

(Tabelle VI und Fig. 6) und eine größere Versuchsreihe am Pferdeserum (Tabelle VII und Fig. 7).

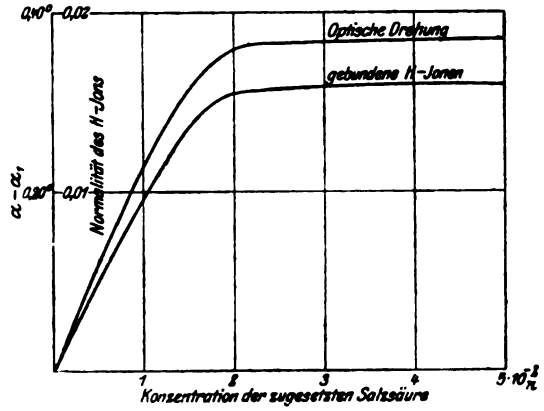


Fig. 5.

Tabelle VI.

Rinderserum + Base. Eiweißkonz. = 1,07 %.

Konzentration	α^0 bei Zusatz von	
	Natronlauge	Ammoniak
0,05 n	1,52	1,07
0,03	1,52	1,07
0,02	1,41	1,06
0,01	1,13	1,05
0,005	1,05	1,04
0,0	1,02	1,02

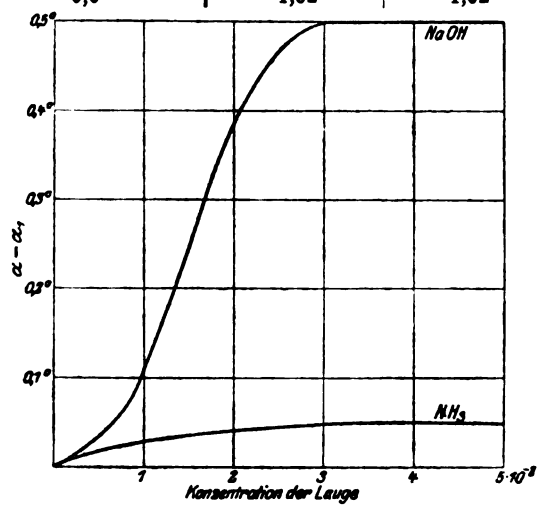


Fig. 6.

Tabelle VII.

Eiweißkonz. = 0,9 %.

Basen-Konzentration	Äthylamin	Methylamin	Trimethylamin	Diäthylamin	Pyridin	Piperidin	$(CH_3)_4NOH$
0,05 n	1,07	1,05	0,98	1,15	0,97	1,15	1,58
0,03 n	1,04	1,01	0,98	1,04	0,97	1,07	1,49
0,01 n	0,98	0,98	0,98	0,97	0,97	0,98	1,07
0,00 n	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97

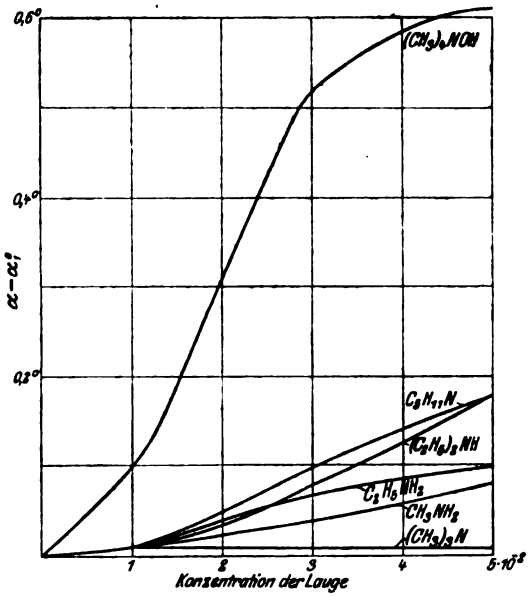


Fig. 7.

Aus der letzten Versuchsreihe geht hervor, daß wiederum, wie bei der Reibung von Säureiweiß, eine weitgehende Übereinstimmung in der Wirkung auf Anstieg von Drehung und Viscosität bei verschiedenen Basen besteht. Diese ordnen sich in beiden Fällen zum Unterschiede von den Säuren mit guter Annäherung entsprechend ihren Dissoziationskonstanten an.

Von großem Interesse ist die Einwirkung von Neutralsalzen auf das optische Drehungsvermögen von Säure- und Laugeneiweiß. Beim Säureeiweiß setzen nach den Unter-

suchungen am hiesigen Institut Neutralsalze der Alkali- und Erdalkalimetalle im Punkte maximaler Ionisation des Eiweißsalzes (für 1 %ige Lösungen zwischen 0,015 n und 0,02 n) die Reibung herab und führen zur Wiederkehr der Alkoholfällbarkeit und Hitzekoagulierbarkeit. Dabei besitzen die verschiedenen Anionen auf den Grad der Wirkung einen etwas verschiedenen, die Kationen den gleichen Einfluß. In analoger Weise wirken diese Salze auf das Drehungsvermögen von Säureeiweiß, indem sämtliche eine mäßige Herabsetzung desselben bewirken, die von etwa 0,05 n-Neutralsalz angefangen, konstant wird. Über diese Verhältnisse orientiert Versuchstabelle X und XI samt den zugehörigen Kurven des optischen Drehungsvermögens. (Fig. 8 u. 9.)

Tabelle VIII.

Rinderserum + Säure + Salz.

Konzentration	α^0 bei Zusatz von				
	KCl	K_2SO_4	KNO_3	KCNS	$Ba(NO_3)_2$
0,015 n-HCl	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
0,015 „ + 0,01 n-Salz	1,28	1,18	1,21	1,23	1,22
0,015 „ + 0,05 „	1,19	1,12	1,18	1,17	1,17
0,015 „ + 0,1 „	1,16	1,11	1,17	—	1,17

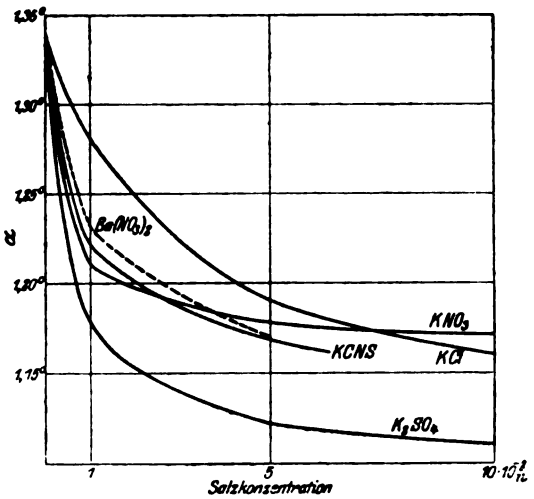


Fig. 8.

Tabelle VIIIa.

Pferdeserum + Säure + Salz.

Konzentration	α^0 bei Zusatz von			
	K_2SO_4	KNO_3	KCNS	$Ba(NO_3)_2$
0,02 n-HCl	1,52	1,56	1,52	1,53
0,02 „ + 0,002 n-Salz	1,45	1,51	1,46	1,49
0,02 „ + 0,004 „	1,40	1,48	1,41	1,46
0,02 „ + 0,006 „	1,36	1,46	1,39	1,44
0,02 „ + 0,008 „	1,35	1,44	1,37	1,43
0,02 „ + 0,010 „	1,34	1,43	1,34	1,42
0,02 „ + 0,03 „	—	1,36	1,20	1,37
0,02 „ + 0,05 „	—	1,34	1,15	1,34

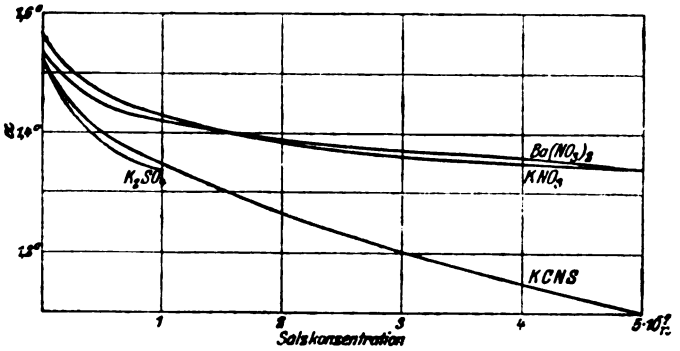


Fig. 9.

Tabelle IX.

Pferdeserum + Alkali + Salz.

Konzentration	α^0 bei Zusatz von		
	K_2SO_4	KNO_3	$Ba(NO_3)_2$
0,02 n-NaOH	1,41	1,44	1,45
0,02 „ + 0,002 n-Salz	1,41	1,44	1,41
0,02 „ + 0,004 „	1,41	1,44	1,38
0,02 „ + 0,006 „	1,41	1,44	1,37
0,02 „ + 0,008 „	1,41	1,44	1,36
0,02 „ + 0,010 „	1,41	1,44	1,35
0,02 „ + 0,030 „	—	1,43	1,34
0,02 „ + 0,050 „	—	1,42	1,34

Tabelle IXa. (Fig. 10.)

Rinderserum + Alkalieiweiß + Neutralsalz. Eiweißkonz. = 1,07 %.

Konzentration	α⁰ bei Zusatz von					
	KCl	K_2SO_4	KNO_3	KCNS	$Ba(NO_3)_2$	$Ca(NO_3)_2$
0,02 n-NaOH	1,41	1,41	1,41	1,41	1,41	1,41
0,02 „ + 0,01 n-Salz	1,40	1,40	1,40	1,39	1,29	1,26
0,02 „ + 0,05 „	1,41	1,39	1,39	1,41	1,27	1,24
0,02 „ + 0,10 „	1,40 bis 1,41	1,39	1,41	1,40	1,27	1,23

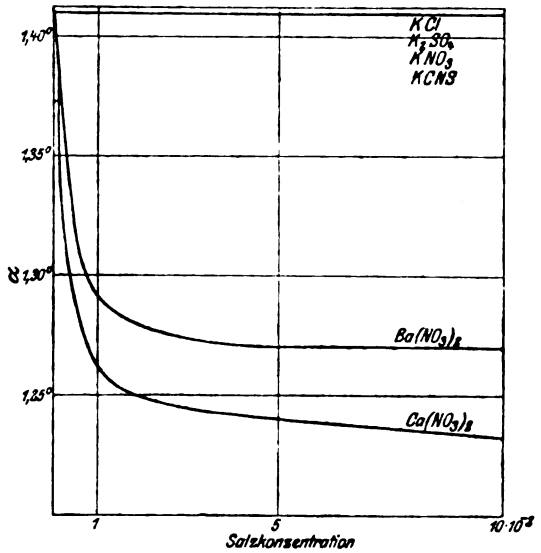


Fig. 10.

Etwas verschieden vom Säureeiweiß verhält sich das Alkalieiweiß, indem hier die Neutralsalze der Alkalien keinen Einfluß auf das Drehungsvermögen haben, während die der Erdalkalien eine deutliche Depression bewirken. Ganz analoge Erfahrungen sind seinerzeit mit dem Einfluß der Neutralsalze auf die Gerinnungstemperatur von Alkalieiweiß gemacht worden.

Tabelle X.

Eiweißkonz. = 1,07 %.

Konzentration	0,02 n-Coffein	0,02 n-Coffein + 0,005 n-HCl	0,02 n-Coffein + 0,01 n-HCl	0,02 n-Coffein + 0,02 n-HCl	0,02 n-Coffein + 0,03 n-HCl	0,02 n-Coffein + 0,05 n-HCl
α⁰	1,03	1,16	1,37	1,54	1,47	1,43

In Tabelle X, Xa und b, Fig. 11, wurden die optischen Drehungsänderungen von Säureeiweiß durch Coffein und Theophyllin dargestellt.

Tabelle Xa.

Eiweißkonz. = 1,07 %.

Konzentration	0,02 n-Coffein hydrochlorium	0,02 n-Coffein hydrochloric. + 0,005 n-HCl	0,02 n-Coffein hydrochloric. + 0,01 n-HCl	0,02 n-Coffein hydrochloric. + 0,02 n-HCl	0,02 n-Coffein hydrochloric. + 0,03 n-HCl	0,02 n-Coffein hydrochloric. + 0,05 n-HCl
α^0	1,55	1,53	1,47	1,45	1,44	1,43

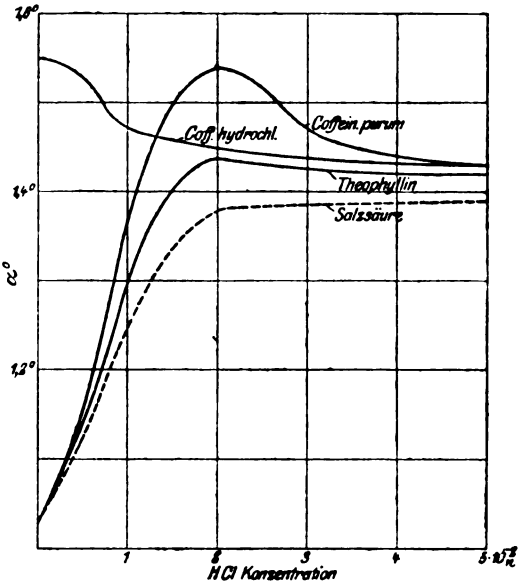


Fig. 11.

Tabelle Xb.

Konzentration	0,02 n Theophyllin	0,02 n-Theophyllin + 0,005 n-HCl	0,02 n Theophyllin + 0,01 n-HCl	0,02 n-Theophyllin + 0,02 n-HCl	0,02 n-Theophyllin + 0,03 n-HCl	0,02 n-Theophyllin + 0,05 n-HCl
α^0	—	1,14	1,30	1,44	1,43	1,42

Wie ein Blick auf die Kurve lehrt, bewirken diese Purinkörper eine deutliche Steigerung der optischen Drehung, so daß analoge Kurven resultieren, wie sie unter den gleichen Umständen für die Viscosität des Eiweißes gefunden wurden. Der direkte Zusatz von salzsaurem Coffein wirkt in der gleichen Weise auf das neutrale wie pures Coffein auf das Säureeiweiß.

In Tabelle XI und Fig. 12 sind einige Versuche mit amphoteren Elektrolyten (Thioharnstoff, Kakodylsäure und Amidobenzoesäure) enthalten.

Tabelle XI.

Pferdeserum Endkonz. = 0,9%.

Konzentration	0,00 n	0,01 n	0,03 n	0,05 n
Thioharnstoff	0,99	0,98	0,99	1,01
Kakodylsäure	0,99	0,99	1,00	1,03
Amidobenzoesäure	0,99	0,98	1,00	1,02

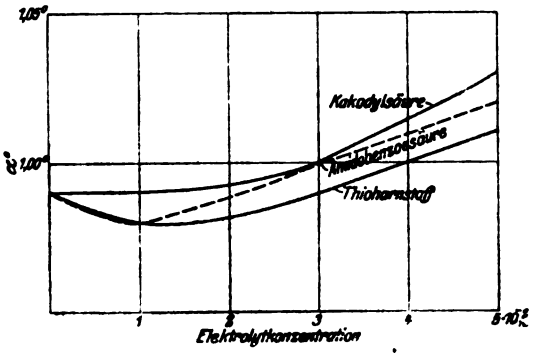


Fig. 12.

Tabelle XII.

Temp. 35° C.

Konzentration	1% Gelatine	1% Gelatine $+5\cdot10^{-3}$ n	1% Gelatine $+1\cdot10^{-2}$ n	1% Gelatine $+2\cdot10^{-2}$ n
HCl	2,45	2,50	2,51	2,48
NaOH	2,46	2,52	2,56	2,49

Sämtliche Versuche am Glutin wurden in genau temperierten Drehungsröhren bei 35° ausgeführt (Tabelle XII), indem mittels einer kräftigen, elektrisch angetriebenen Rotationspumpe kontinuierlich Thermostatenwasser von 35° durch den

Mantel der Polarisationsröhre getrieben wurde. Die Werte bei höherem Säure- und Laugengehalt können durch Abbauerscheinungen getrübt sein.

Für die theoretische Deutung der vorliegenden Beobachtungen war die Frage von Wichtigkeit, ob die durch Säure- bzw. Laugenzusatz bedingte Steigerung der optischen Aktivität nach Entfernen der Elektrolyte wieder rückgängig gemacht werden kann. Reines 1,1 %iges Serumalbumin wurde mit soviel Salzsäure versetzt, daß der Gehalt der Mischung 0,0125 n-HCl betrug und darauf einer Dialyse in langsam fließendem destillierten Wasser unterworfen. Sobald die elektrische Leitfähigkeit des Dialysierwassers gleich der des destillierten Wassers wurde, bestimmten wir den Trockengehalt der Eiweißlösung (sie war auf 0,6 % gesunken) und die optische Drehung derselben. Außerdem stellten wir den Drehungswinkel des reinen 0,6 %igen Serumalbumins fest, sowie die Aktivität des 0,6 %igen Serumalbumins bei Gegenwart von 0,0125 n-HCl. Eine andere Probe wurde zuerst bis zum Gehalte 0,0125 n mit Salzsäure versetzt und darauf durch Laugenzusatz scharf neutralisiert.

Tabelle XIII.

Rinderalbumin, Endkonzentration 0,6 %.

Reines Albumin	Albumin + 0,0125 HCl	Albumin + 0,0125 HCl dialysiert	Albumin + 0,0125 HCl neutralisiert
$\alpha = -0{,}68$	$\alpha = -0{,}82$	$\alpha = -0{,}70$	$\alpha = -0{,}69$

Ähnlich gelingt es, die durch Laugenzusatz erhöhte optische Drehung durch Neutralisation auf den ursprünglichen Wert zu bringen (Tabelle XIV).

Tabelle XIV.

Rinderalbumin, Endkonzentration 0,6 %.

Reines Albumin	Albumin + 0,02 NaOH	Albumin + 0,02 n-NaOH neutralisiert
$\alpha = -0{,}68$	$\alpha = -0{,}89$	$\alpha = -0{,}65$

Nachträgliche Berichtigung zu meiner Arbeit: „Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophanthinwirkung“

(diese Zeitschr. Bd. 28, S. 392, 1910).

Von

Walther Straub.

(Eingegangen am 4. Januar 1914.)

Während die prinzipiellen Ergebnisse der zitierten Arbeit über den Zusammenhang von Wirkung und Giftkonzentration von den nachprüfenden Autoren bestätigt worden sind, ist eine weitgehende Differenz in der absoluten Wirksamkeit des Strophanthins zwischen Heffter und Sachs[1]) und mir noch nicht geklärt.

Diese Autoren haben die Toxizität von Gratusstrophanthin cryst. zu 1:25000 ermittelt, während ich sie mit 1:400000 angebe. Diese Differenz ums 16fache kann ich jetzt erst aufklären, da ich erst vor kurzem das Präparat, mit dem ich damals arbeitete, wieder in die Hände bekam. Die Flasche hat die Aufschrift: Strophanthinum purissimum Merck Ph. U. S. VIII und enthält ein amorphes, nicht reinweißes Pulver. Meine Angabe: Strophanthinum crystallisatum Merck ist also falsch und beruht auf einer mir unterlaufenen Verwechselung. Nach Mercks Index 1910 ist das amerikanische Strophanthin aus Kombésamen dargestellt. Es gibt mit 80% H_2SO_4 eine gelbgrüne Farbe, nicht die grasgrüne der reinsten Präparate. Eine jetzt angestellte Toxizitätsbestimmung nach der Einstundenmethode ergab den Wert von 0,000001 g pro Gramm Frosch (Esculenta), der

[1]) Heffter und Sachs, diese Zeitschr. 40, 118, 1912.

mit den Bestimmungen der amerikanischen Autoren[1]) für das offizinelle Strophanthin der U. S. Ph. genügend übereinstimmt.

Demnach habe ich das amorphe Kombéstrophanthin in Händen gehabt, das bekanntlich eine viel größere Toxizität als das Gratusstrophanthin besitzt. Heffter und Sachs bestimmten sie für meine Versuchsanordnung zu $^1/_{200\,000}$.

Danach ist nur mehr eine Differenz ums Doppelte zu klären, und die ergibt sich ohne Zwang aus dem Einfluß der Temperatur, der von Trendelenburg[2]) gerade für ausgeschnittene Herzen als ein sehr beträchtlicher ermittelt wurde. Meine Messungen mit dem Resultat $^1/_{400\,000}$ fanden im August bei 25° bis 28° statt, Heffter und Sachs arbeiteten bei 14° bis 18°. Die Temperaturdifferenz von 10° ist genügend, um nach der bekannten van't Hoffschen Regel die Reaktionsgeschwindigkeit und damit wohl auch die Toxizität gerade zu verdoppeln!

Demnach besteht zwischen Heffter und Sachs und mir tatsächlich volle Übereinstimmung.

---

[1]) Worth Hale, U. S. Publ. Health Service Bull. 74, 1911, bestimmt den Wert zu 0,0000011 pro Gramm Frosch.

[2]) P. Trendelenburg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1909.

Zur Kenntnis emulsinartiger Enzyme[1]).

Von

L. Rosenthaler.

(Eingegangen am 5. Januar 1914.)

In einer Juni 1913 im Journ. of Physiol. erschienenen Arbeit bespricht Herr Bayliss auch das „σ-Emulsin Rosenthaler" und kommt zu dem Schlusse, daß nichts für seine Verschiedenheit vom hydrolysierenden Emulsinanteil spreche. Ich lege Wert darauf klarzulegen, daß dieser Schluß lediglich einem Herrn Bayliss unterlaufenen Mißverständnis zuzuschreiben ist.

Als σ-Emulsin hatte ich zuerst den Bestandteil des Emulsins bezeichnet, der die Eigenschaft besitzt, Blausäure und Benzaldehyd zu d-Benzaldehydcyanhydrin zu synthetisieren, und habe dann später denselben Bestandteil, um jeden Irrtum über die Art seiner Wirkung auszuschließen, nach dem Vorschlag Eulers als d-Oxynitrilese bezeichnet. Eine andere als die aus dieser Bezeichnung hervorgehende Wirkung habe ich diesem Enzym nicht zugeschrieben. Trotzdem vergleicht Herr Bayliss die hydrolysierende Wirkung seiner Präparate nicht mit der Bildung optisch-aktiver Oxynitrile, sondern mit der synthetischen Bildung von Glucosiden, einer Wirkung, die mit dem „σ-Emulsin Rosenthaler" nicht das geringste zu tun hat. Es liegt auf der Hand, daß damit alle Schlußfolgerungen des Herrn Bayliss, soweit sie meine Arbeiten betreffen, hinfällig sind.

[1]) Vgl. hierzu diese Zeitschr. **50**, 486, 1913.

Druckfehlerberichtigung.

Auf S. 190 dieses Bandes, Zeile 24 von oben muß es heißen:

trennen statt rennen.

Autorenverzeichnis.

Ask, Fritz. Über den Zuckergehalt des Kammerwassers. S. 1.
— Über den Zucker im Humor aqueus beim Menschen. S. 35.
Beutner, R., siehe Loeb und Beutner.
Bien, Z., siehe Rona und Bien.
Dakin, H. D., und H. W. Dudley. Über „Glyoxalase", ein Enzym, das Milchsäure aus Methylglyoxal bildet. S. 193.
Dudley, H. W., siehe Dakin und Dudley.
Falk, Margarete. Über die Einwirkung von Serum auf Ureasen (spezifische Auxoureasen). S. 298.
— Über das Schicksal der Soja-Urease im normalen und im vorbehandelten Organismus. S. 316.
Ferro, Paolo, siehe Izar und Ferro.
Hanschmidt, E. Zur Wirkung von Eidotteremulsionen auf den tierischen Organismus. S. 281.
Hermanns, Leo. Über den Abbau der Fettsäuren im Tierkörper. S. 333.
Herzfeld, E. Versuche mit Triketohydrindenhydrat. S. 249.
Horsters, Hans. Über die Einwirkung von Milchschimmel auf Phenylaminoessigsäure. S. 444.
Iwao, Toku. Beiträge zur Kenntnis der intestinalen Autointoxikation. I. S. 436.
Izar, Guido, und Giuseppe Di Zuattro. Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten. II. S. 226.
— und Paolo Ferro. Synthetische Antigene zur Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten. III. S. 234. IV. S. 236.
— — Über Lipoproteine. III. S. 238. IV. S. 244.
Izar, Guido, und Prospero Mammana. Über Lipoproteine. V. S. 247.
Kammann, O. Anaphylaxie und Heilsera. S. 347.
Kondo, Kura. Ein experimenteller Beitrag zur Frage der Fettbildung aus Eiweiß bei der Reifung des Käses. S. 113.
Krogh, A., und J. Lindhard. Über die von den Respirationsbewegungen bedingten Schwankungen des Gaswechsels und Blutstroms in den Lungen des Menschen. S. 260.
Leimdörfer, Alfred. Über den Einfluß der intravenösen Infusion von sauren, alkalischen und Neutralsalz-Lösungen auf den respiratorischen Stoffwechsel. S. 451.
Lindhard, J., siehe Krogh und Lindhard.
Loeb, Jacques, und R. Beutner. Über die Bedeutung der Lipoide für die Entstehung von Potentialunterschieden an der Oberfläche tierischer Organe. S. 195.
Mammana, Prospero, siehe Izar und Mammana.
Medak, Emil. Beitrag zur Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitsbildern. S. 419.
Michaelis, L. Eine Mikroanalyse des Zuckers im Blut. S. 166.
— und H. Pechstein. Die Wirkungsbedingungen der Speicheldiastase. S. 77.
Neuberg, C., und H. Steenbock. Über die Bildung höherer Alkohole aus Aldehyden durch Hefe. II. S. 188.
— Bemerkung zu den voraufgehenden Auslassungen von Dakin und Dudley. S. 194.

Ohta, Kohshi. Zur Kenntnis der biochemischen Reduktionsvorgänge in Hefezellen. S. 183.
Pauli, Wolfgang, Max Samec und Erwin Strauß. Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XVII. S. 470.
Pechstein, H., siehe Michaelis und Pechstein.
Rona, P., und Z. Bien. Zur Kenntnis der Esterase des Blutes. V. S. 100.
— und G. G. Wilenko. Beobachtungen über den Zuckerverbrauch des überlebenden Herzens. S. 173.
Rosenthaler, L. Zur Kenntnis emulsinartiger Enzyme. S. 498.
Sabbatani, L. Über die Wirkung des kolloiden Schwefels je nach dem Wege seiner Einführung in den Organismus. S. 378.
— Wirkung der auf chemischem Wege bereiteten kolloiden Kohle. S. 408.
Samec, Max, siehe Pauli, Samec und Strauß.
Saneyoshi, S. Vergleichende Untersuchungen über den Eisengehalt von Leukocyten und Lymphocyten. S. 339.
Sasaki, Takaoki. Über die biochemische Umwandlung primärer Eiweißspaltprodukte durch Bakterien. I. S. 429.
Sassa, Renpei. Zur Frage der Glykokollsynthese im Organismus. S. 353.
— Über den Oxybuttersäuregehalt der Organe normaler und diabetischer Individuen. S. 362.
Spiro, K. Zu den Bemerkungen von H. Pechstein über die Salzfällung der Kolloide. S. 337.
Steenbock, H., siehe Neuberg und Steenbock.
Straub, Walther. Nachträgliche Berichtigung zu meiner Arbeit: „Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophantinwirkung". S. 496.
Strauß, Erwin, siehe Pauli, Samec und Strauß.
Tichmeneff, N. Über Eiweißspeicherung in der Leber. S. 326.
Tschannen, Alfred. Der Glykogengehalt der Leber bei Ernährung mit Eiweiß und Eiweißabbauprodukten, ein Beitrag zur Frage der Funktion der Leber bei Verarbeitung von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten. S. 202.
Wehmer, C. Der Gang der Acidität in Kulturen von Aspergillus niger bei wechselnder Stickstoffquelle. S. 63.
Wilenko, G. G., siehe Rona und Wilenko.
Zuattro, Giuseppe Di, siehe Izar und Zuattro.

CHEMISTRY LIBRARY

JOURNAL
Does Not Circulate

CHEMISTRY LIBRARY

ALF Collections Vault
3 0000 091 477 111